

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Veterinária



Dissertação

**Avaliação da ação cicatricial da seiva do
*Croton lechleri***

Thiago Vaz Lopes

Pelotas, 2014

THIAGO VAZ LOPES

**Avaliação da ação cicatricial da seiva do *Croton*
lechleri.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciências (área do conhecimento: Sanidade Animal).

Orientadora:

Prof^a. Dr^a. Márcia de Oliveira Nobre

Co-Orientadores:

Prof. Dr. Sandro Schons

Dr. Samuel Felix

Pelotas, 2014

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

L864a Lopes, Thiago Vaz

Avaliação da ação cicatricial da seiva do Croton lechleri / Thiago Vaz Lopes ; Márcia de Oliveira Nobre, Samuel Rodrigues Felix, orientadores ; Sandro de Vargas Schons, coorientador. — Pelotas, 2014.

69 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Veterinária, Faculdade de Veterinária, Universidade Federal de Pelotas, 2014.

1. Cicatrização. 2. Croton lechleri. 3. Sangue de dragão. 4. Taspina. I. Nobre, Márcia de Oliveira, orient. II. Felix, Samuel Rodrigues, orient. III. Schons, Sandro de Vargas, coorient. IV. Título.

CDD : 634.95

Banca examinadora:

Prof. Dr^a. Márcia de Oliveira Nobre (orientadora)

Prof. Dr. Sandro de Vargas Schons

Prof. Dr. Eduardo Negri Mueller

Prof. Dr. Samuel Rodrigues Felix

Prof. Dr^a Fabiane Borelli Grego (Suplente)

Agradecimentos

Ó Deus, “que darei por todos os benefícios que me tem feito?” (Sl.116.12). O maior deles, que é a salvação e o segundo, os meus pais, os quais me guiaram a ela. A vocês dois quero deixar a minha maior gratidão. Pai obrigado pela força, que a nossa amizade seja sempre “até para lá do barreiro”. Mãe, levarei a sua garra como herança, obrigado pelo carinho.

Aos meus irmãos, Rafa e Iara, vocês são únicos, obrigado pelo apoio, sei que estamos remando juntos.

À minha orientadora Márcia de Oliveira Nobre pela grande oportunidade e confiança.

À Raisa Castro, pelo companherismo e carinho, por estar tão presente apesar de toda a distância, aprendi a gostar de você além da conta.

Ao Venicio, Ruilana, Rodrigo, Elivelton, Aline, Tati e Kelson quero dizer-lhes que quando me pergutam: “e os amigos?”, respondo: “eu tenho os melhores”.

À Cici, minha companheira na pós, por estar literalmente sempre ao meu lado. Ao professor Sandro por ter me inserido na pesquisa e me auxiliado a permanecer nela, a minha estagiária Laura Michelin por ter sido a minha parte organizada na pesquisa e a todo o ClinPet pelo auxílio.

Aos meus avôs, tios, primos e todos que de forma direta ou indireta contribuíram para com essa grande realização.

Muito Obrigado!!!!!!

Portanto Dele, por Ele e para Ele são
todas as coisas. A Ele seja a glória
perpetuamente! Amém.
Romanos 11:36

Resumo

LOPES, Thiago Vaz. **Avaliação da ação cicatricial da seiva do *Croton lechleri***. 2014. 69f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

O propósito deste estudo foi avaliar as propriedades curativas da seiva da espécie *Croton lechleri*. Uma extensa revisão da literatura foi realizada, e as propriedades tóxicas e medicinais conhecidas foram descritas. No entanto, apesar do grande uso pelas comunidades indígenas, não existe uma validação acadêmica dos efeitos dessa planta na cicatrização de feridas. Foram estudados 90 ratos da linhagem Wistar, com a realização de feridas cutâneas abertas no dorso, tratadas diariamente com *Croton lechleri* na concentração de 0,1 µg para o grupo I, grupo II com *C. lechleri* a 1 µg e o grupo III (Controle) com pomada não iônica, sendo realizadas avaliações clínicas, morfométricas, bioquímicas e histológicas aos quatro, sete, 14 e 21 dias de tratamento e estudo tensiométrico aos 21 dias. Na avaliação clínica das feridas aos 14 dias de tratamento, o grupo I apresentou maior presença de tecido de granulação, quando comparado ao controle ($p < 0,05$). No estudo morfométrico, observou-se aos quatro dias de tratamento que o grupo II apresentou uma maior média de área ($32,6 \text{ mm}^2$) e a menor aos sete dias de tratamento ($10,5 \text{ mm}^2$) comparada aos demais grupos. Histologicamente o grupo II demonstrou aos sete dias, um melhor resultado de suas amostras na fase proliferativa. No estudo tensiométrico, o grupo II apresentou a maior média (4,4065 MPa), não sendo observada diferença estatística com os demais ($p > 0,05$). Os resultados levaram as seguintes conclusões: Com ação cicatrizante, *C. lechleri* a 1 µg acelera o processo cicatricial levando a diminuição da ferida aos sete dias de tratamento e leva a produção de um tecido capaz de suportar uma maior tensão, apresentando resultados satisfatórios como cicatrizante.

Palavras-chave: Cicatrização. *Croton Lechleri*. Sangue de dragão. Taspina.

Abstract

LOPES, Thiago Vaz. **Avaliação da ação cicatricial da seiva do *Croton lechleri***. 2014. 69f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Veterinária. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

The purpose of this study was to assess the healing properties of *Croton lechleri* sap. An extensive review of current literature was performed, and the known toxic and medicinal properties were described. However, in spite of widespread use by indigenous communities, there is no academic assessment of the plant's effect on wound healing. In this light, an experiment with 90 Wistar rats was conducted. Two wounds were prepared in the back of each rat, and treated with *C. lechleri* sap at 0.001%, 0.0001%, and non-ionic cream (Groups I, II, and III respectively). The healing process was then assessed through clinical, morphometric, and histological evaluations of the wounds on days four, seven, 14, and 21, and a tensiometric assessment on the last day. Treatment with *C. lechleri* seems to have hastened the healing process by day 14, when group I had a greater amount of wounds with granulation tissue than group III ($P < 0.05$). In the morphometric study, group II had larger wounds at day four (32.62 mm²), but presented faster healing and, by day 7, had the smallest area (10.5 mm²). Histologically, group II had a greater number of wounds in the proliferative phase by day 7 and in the tensiometric assay (day 21), this group had the greater rupture strength (4.41 MPa), however, this was not statistically different from other groups ($P > 0.05$). These results considered, it seems clear that the *C. lechleri* sap at 0.001% hastens the healing process, rapidly reducing wound size within seven days of treatment, and producing a scar tissue capable of resisting greater pressure.

Key-words: Wound healing. *Croton lechleri*. Dragon's blood. Taspine.

Lista de Figuras

- Figura 1 Média da área das feridas tratadas com *C. lecheri*. Barras pretas representam o grupo I, linhas diagonais representam o grupo II e linhas horizontais representam o grupo controle.....52
- Figura 2 Análise clínica das feridas cutâneas abertas em ratos Wistar tratadas com *C. lecheri* a 0,1 µg (Grupo I), 1 µg (Grupo II) e controle (Grupo III). Avaliação aos quatro (A, B, C), aos sete (D, E, F), aos 14 (G, H, I) e aos 21 dias de tratamento (J, K, L).52

Lista de Tabelas

ARTIGO 1 Sangue de Dragão (*Croton lechleri* Mull., Arg.): composição química e atualização dos principais estudos sobre sua aplicação.

Tabela 1	Espécies de <i>Croton</i> e suas respectivas distribuições geográficas como também suas descritas indicações terapêuticas citados em publicações recentes.....	41
----------	--	----

ARTIGO 2 Sangue de Dragão (*Croton lechleri* Mull., Arg.): Avaliação da ação cicatricial da seiva em feridas cutâneas.

Tabela 1	Avaliação clínica do processo cicatricial, de feridas cutâneas abertas em ratos tratados com a aplicação tópica de <i>Croton lecheri</i>	51
Tabela 2	Efeito sobre os parâmetros bioquímicos de <i>Croton lecheri</i> em aplicação tópica de feridas cutâneas aberta em ratos.....	54

Lista de Abreviaturas

ALT - Alanina aminotransferase

AST- Aspartato aminotransferase

CEEA - Comissão de Ética e Experimentação Animal

DL 50 - Dose letal para 50% da população

Dmáx - Deformação na carga máxima

FA - Fosfatase alcalina.

HFSL Herbário da Faculdade São Lucas

LM - Limite máximo

NSF - Normal Stool Formula™

UFPeI - Universidade Federal de Pelotas

UNIR - Universidade Federal de Rondônia

Sumário

1	Introdução.....	12
2	Objetivos.....	14
3	Artigos.....	167
3.1	Artigo 1 - Sangue de Dragão (<i>Croton lechleri</i> Mull., Arg.): composição química e atualização dos principais estudos sobre sua aplicação.....	167
3.2	Artigo 2 - Sangue de Dragão (<i>Croton lechleri</i> Mull., Arg.): Avaliação da ação cicatricial da seiva em feridas cutâneas	40
4	Conclusão Geral	57
5	Referências.....	58

1 INTRODUÇÃO

A pele é o tecido de revestimento de todo o organismo e a primeira barreira de proteção a agentes externos, sendo a sua capacidade de reparação muito importante para a sobrevivência do indivíduo, visto que ela sofre agressões constantemente (NOGUEIRA et al., 2005). Assim pode ter o equilíbrio entre as células perturbadas após uma agressão física, química ou biológica. Por essa razão observa-se resposta tissular à injúria, visando o reparo tecidual e a reposição de colágeno. A cicatrização está caracterizada por uma cascata de eventos celulares e humorais, iniciados com a coagulação e toda a fase inflamatória, a proliferação de fibroblastos e o remodelamento (MEDEIROS et al., 2005; MENDONÇA e COUTINHO-NETTO, 2009).

O processo de cicatrização tem como finalidade restabelecer a homeostasia tecidual (CAVALCANTE et al., 2012)., e o tecido lesado será substituído por tecido conjuntivo vascularizado (PANOBIANCO et al., 2012), através de um conjunto de eventos bioquímicos a fim de reparar o dano e promover a cicatrização (PAGANELA et al., 2009). Para acelerar o processo cicatricial a utilização de terapia medicamentosa é de grande valia, podendo ser empregados produtos medicinais de origem natural, os quais são de baixo custo e de fácil acessibilidade, principalmente para as populações de menor renda, e ainda pelo menor efeito colateral (SARANDY, 2007).

Árvores da espécie *Croton lechleri* são de ampla distribuição na metade norte do Brasil, sendo a sua seiva utilizada para o tratamento de feridas cutâneas, dentre tantas outras aplicações empíricas atribuídas a ela. Sendo assim a validação dos efeitos terapêuticos, dessa seiva interessa economicamente às comunidades de pequenos produtores locais, que se beneficiariam da sua industrialização após a comprovação de sua eficácia terapêutica por estudos científicos (LOPES et al, 2013).

Nesse contexto, objetivou-se avaliar o potencial pró-cicatrizial da seiva de *C. lechleri*. Para tanto, foi realizado um levantamento bibliográfico sobre a planta, o qual resultou em publicação na forma de artigo de revisão, sendo ele o Artigo 1, publicado na Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal, sob o título “Sangue de Dragão (*Croton lechleri* Mull., Arg.): composição química e atualização dos principais estudos sobre sua aplicação”. A avaliação do efeito cicatrizial da planta foi realizada em modelo murino e apresentado em formato de artigo, seguindo as normas de publicação do periódico, Revista Brasileira de Plantas Medicinais, sob o título “Sangue de Dragão (*Croton lechleri* Mull., Arg.): Avaliação da ação cicatrizial da seiva em feridas cutâneas.” (Artigo 2).

2 OBJETIVOS

Objetivo geral

Avaliar a ação da seiva de *Croton lechleri* sobre parâmetros clínicos e histopatológicos, morfométricos, tensiométricos e bioquímicos associados ao processo cicatricial.

Objetivos específicos

- Revisar os principais estudos realizados com a seiva do *C. lechleri*;
- Avaliar o processo cicatricial das feridas em ratos, tratadas com *C. lechleri* nas concentrações de 1 µg e 0,1 µg através de análises clínica, histológica, morfométrica, tensiométrica e bioquímica;
- Avaliar histologicamente o fígado e os rins, a fim de determinar um possível efeito tóxico da seiva do *C. lechleri*, como também seus parâmetros bioquímicos.
- Avaliar a força e a tensão das feridas cutâneas, tratadas com *C. lechleri*.

3 ARTIGOS

3.1 Artigo 1

Dragon's blood (*Croton lechleri* Mull., Arg.): an update on the chemical composition and medical applications of this natural plant extract. A review.

Thiago Vaz Lopes¹, Samuel Rodrigues Félix^{*1}, Sandro de Vargas Schons²; Márcia de Oliveira Nobre¹

Publicado na Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal

Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal

Print version ISSN 1981 – 2965

Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal, v. 07, n. 2, p.167-191, jul-dez, 2013

<http://dx.doi.org/10.5935/1981-2965.20130016>

Artigo Científico

Medicina Veterinária

Dragon's blood (*Croton lechleri* Mull., Arg.): an update on the chemical composition and medical applications of this natural plant extract. A review

Thiago Vaz Lopes¹, Samuel Rodrigues Félix*¹, Sandro de Vargas Schons²; Márcia de Oliveira Nobre¹

ABSTRACT: Plants of the amazon region are commonly applied for medicinal uses, foremost among these is the latex producing *Croton lechleri*. The taspine rich latex has anti-inflammatory, wound healing, and soothing properties, among several others. This review summarizes the most important research findings regarding the applications of this plant extract. Public receptiveness to plant based treatments result in indiscriminate use of these compounds, often with no scientific validation. Likewise, *Croton lechleri* extracts must be subjected to safety testing and clinical trials before its products are made available, in a commercial scale, with recognized therapeutic functions.

Key words: Herbal, *Croton lecheri*, taspine, update.

Sangue de Dragão (*Croton lechleri* Mull., Arg.): composição química e atualização dos principais estudos sobre sua aplicação. Uma Revisão

RESUMO: Na região amazônica muitas plantas são usadas popularmente para fins medicinais, uma espécie de destaque é o *Croton lechleri*, produtora de um látex cuja composição química é rica no alcalóide taspina. Este possui ação anti-inflamatória, analgésica e cicatrizante reconhecida. Objetivou-se assim revisar as publicações mais

recentes com o intuito de reunir e atualizar os principais estudos referentes a aplicações desta planta. A receptividade popular por receitas tradicionais usando plantas medicinais faz com que, muitas vezes estas sejam usadas sem os devidos estudos científicos para validação de suas aplicações terapêuticas. Da mesma forma, as aplicações do *Croton lechleri* devem sofrer os devidos ensaios clínicos a fim de colocar os produtos e subprodutos a base desta planta no mercado, em escala comercial, com suas funções terapêuticas reconhecidas.

Palavras-chave: fitoterápico; *Croton lechleri*; taspina; atualização.

¹ Programa de Pós Graduação em Veterinária – Universidade Federal de Pelotas (UFPeL), Caixa postal 354 – Campus Universitário, CEP: 96010-900 – Pelotas/RS
*ylopes.thiago@gmail.com

² Departamento de Medicina Veterinária - Campus de Rolim – Universidade Federal de Rondônia (UNIR) Av. Norte Sul, 7300 - Nova Morada, CEP: 78987-000 Rolim de Moura – RO

Introdução

A utilização de plantas para fins terapêuticos destaca-se dentro do repertório cultural (OLIVEIRA et al., 2010). A medicina popular vem acumulando durante séculos o conhecimento empírico, através de observações sobre o uso e a eficácia das plantas medicinais, simbolizando, em alguns casos, o único recurso terapêutico de várias comunidades e grupos étnicos com pouco ou nenhum

acesso a serviços formais de saúde (VALLE et al., 2013). A prática do consumo e frequentes prescrições partem deste conhecimento observacional. Sendo assim, as informações terapêuticas que foram sendo acumuladas ao longo do tempo são importantes indicativos da ação farmacológica destas plantas (MACIEL et al., 2002), entretanto, essa ação deve ser comprovada por estudos acadêmicos.

Uma alternativa para os tratamentos na medicina convencional é a utilização de varias partes das plantas medicinais tais como raiz, caule, seiva, folha, flores, frutos ou sementes, dependendo da espécie vegetal (DINIZ et al., 2013). Muitas destas plantas não têm seus efeitos descritos em estudos científicos, contudo, este cenário vem mudando e tem se tomado um número crescente de iniciativas a fim de garantir o acesso seguro e o uso racional dessas plantas e fitoterápicos (BRASIL, 2009). Em função disso, cada vez mais se procura compostos naturais bioativos de plantas da Amazônia, visando estabelecer ensaios biológicos como modelos para novas investigações nesse campo, a fim de preservar, estudar e explorar racionalmente o bioma amazônico (DI STASI, 2002). Neste contexto destaca-se a espécie *Croton lechleri*, conhecida popularmente como sangue de dragão, sangue de grado ou sangue de drago (PERCY et al., 2007).

Com descrita atividade anti-inflamatória, antibiótica, antioxidante e cicatrizante, seus estudos farmacológicos e clínicos realizados até 2002 foram reunidos por JONES (2003).

Desta forma, este estudo teve como objetivo reunir dados da literatura referentes à biologia e composição química do *Croton lechleri* e do seu extrato. Mais que isso, esse estudo atualiza o que se sabe sobre as aplicações do sangue de dragão, reunindo os principais ensaios referentes ao tema publicados na última década.

***Croton lechleri*:**

Com cerca de 1.200 espécies e 1400 binômios o *Croton* é um dos maiores gêneros das Euphorbiaceae (GOVAERTS et al., 2000). Da subclasse Rosidae, classe Magnoliopsida, o gênero tem distribuição nas Antilhas, Américas, África continental e Madagascar

(WEBSTER, 2001). O *C. lechleri*, com sinônimos botânicos *C. draco* var *cordatus* Mull. Arg e *Oxydectes lecheri* Kuntze (ZEVALLOS-POLLITO & TOMAZELLO, 2004), é popularmente conhecido pelos nomes: sangue de drago, sangue de dragão e sangue de grado. O gênero no Brasil ocorre principalmente nos estados do Acre, Bahia, Ceará, Goiás, Maranhão, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Paraná, Paraíba, Pernambuco, Rio de Janeiro, Rondônia e São Paulo (AZEVEDO et al., 2008).

LINNAEUS em 1753 propôs o gênero e Müller em 1873 retratou com diversos táxons novos que foram e vêm sendo propostos, sendo que as espécies brasileiras ainda não foram totalmente revisadas (SECCO, 2009). Esse fato torna confusa a taxonomia do *Croton* na região e estudos recentes na América do Sul ainda não foram eficientes para que se possa precisar os limites específicos da ocorrência do *C. lechleri*. Da mesma

forma, na região amazônica há uma grande quantidade de espécimes necessitando de uma melhor identificação em herbários, indicando a necessidade de se gerar mais conhecimento taxonômico sobre o gênero (GUIMARÃES & SECO, 2010). Além disso, a identificação do *C. lechleri* é complexa, com grande variação morfológica (forma, disposição, consistência, coloração e tamanho das folhas, tricomas e glândulas), idade, distribuição geográfica e processos adaptativos (ZEVALLOS-POLLITO & TOMAZELLO, 2007).

O *C. lechleri* apresenta um comportamento fenológico cíclico, com aproximadamente cinco meses de duração. A floração e frutificação ocorrem de julho a agosto e a maturação e disseminação entre setembro e outubro. A floração coincide com o período seco e a disseminação com o início do período de chuvas

(AZEVEDO et al., 2008). Suas sementes são muito pequenas e se disseminam geralmente pelo vento, por aves, pela água e por formigas (KING et al., 1997; LEAL, 2003).

A planta é encontrada em florestas com planície de inundação, com solos férteis e úmidos, à margem de rios e riachos com boa drenagem, assim como, em locais alterados como fragmentos de florestas e especialmente em campos de cultivos abandonados tornando-se importante na recuperação de áreas degradadas nos diversos países em que ocorre naturalmente. Não suporta períodos longos de inundação e solos perturbados e cultivados, como uma clássica espécie pioneira (FORERO et al., 2000; AZEVEDO et al., 2008). Tolerante a sombra inicial parcial, mas que se desenvolve melhor a plena luz, domina ou se estabelece no estrato intermediário do bosque (codominante), mostrando preferência por solos variando de extremamente

ácidos a neutros de textura média a fina (de arenoso a argiloso), tolerando também solos degradados. Sua densidade populacional varia de três a 15 indivíduos por hectare, mas esporadicamente pode também ser encontrado em populações de 90 a 150 árvores por hectare. No Brasil, apresentam-se de forma espontânea em vários estados, sendo abundante no Acre e em Rondônia principalmente as margens do rio Madeira (FORERO et al., 2000; BRITO et al., 2007).

Entre os temas mais estudados na química de produtos naturais, farmacologia e etnofarmacologia, estão às espécies desse gênero e suas substâncias químicas. É esperado que se acumule rapidamente novos dados sobre suas substâncias e respectivos efeitos farmacológicos. Um dos mais importantes centros de diversidade desse gênero se encontra no Brasil, pois existem, ao menos, 354 espécies de *Croton* nativas conhecidas (SECCO et

al, 2001; SALATINO et al., 2007) muitas delas com efeitos terapêuticos já descritos como demonstrado na Tabela 1.

Características Químicas

Látex de *Croton lechleri*

A importância do gênero *Croton* aumenta consideravelmente do ponto de vista médico por possuir grande quantidade de alcalóides bioativos (AMARAL & BARNES, 1997). Dessa forma, o interesse pelo estudo dessas plantas é justificado, porém ainda são poucos os trabalhos avaliando os produtos do *C. lechleri* (MILANOWSKI et al., 2002).

O alcalóide metabolizado pelo material foliar do *C. lechleri* foi similar ao do látex produzido pelo mesmo. Sendo a taspina o único alcalóide detectado no látex de indivíduos adultos (CAI et al., 1993a; CAI et al., 1993b), enquanto que em outras partes da planta (folhas, flores, inflorescências, casca do tronco, raízes e sementes) outros

alcalóides como magnoflorina, isoboldina, taliporfina, também foram encontrados (MILANOWSKI et al., 2002). O exsudado das glândulas da base das folhas é a única amostra que não apresenta acúmulo de alcalóides, o que se justifica, pois estas tem a função de secretarem uma substância açucarada que serve para atrair formigas que atuam como dispersoras de sementes e polinizadoras, necessitando a ausência de alcalóides por serem potencialmente tóxicos aos insetos. Essa característica sugere que estes alcalóides apresentam atividade repelente, potencial este que deve ser averiguado em estudos controlados.

Os frutos e as folhas exalam um odor agradável ao final da tarde, mostrando uma possível utilização como planta aromática, um potencial que também é pouco explorado (CAI et al., 1993a; CAI et al., 1993b). As Euphorbiaceae, em sua maioria, não são conhecidas como aromáticas, porém,

algumas espécies de *Croton* contêm óleos voláteis, bem como fenilpropanóides e terpenóides (mono e sesquiterpenos) na sua composição (OLIVEIRA et al., 2001; LOPES et al., 2003; SALATINO et al., 2007).

Em estudos químicos realizados com o látex do *Croton lechleri*, demonstrou-se que os constituintes majoritários são compostos polifenólicos, representando cerca de 90% do peso seco (CAI et al., 1993a). Foram isolados a catequina, epicatequina, galocatequina, proantocianidinas, B-1 e B-4, galocatequina, os diterpenos Korberina A e B, os compostos minoritários 1,3,5 trimetoxi-benzeno e o 2,4,6 trimetóxi-fenol (CAI et al., 1991; PALAZZINO et al., 1997; MACIEL et al., 2002; SILVA et al., 2002), 3',4-O-dimetilcedrusina, que tem ação sobre os radicais livres e também foram encontrados os alcalóides como piridina, aportineindole, quinoleína,

tropanos, ácidos graxos insaturados, anthraquinones e triterpenos (MARINO et al., 2008).

Taspina

A taspina é um alcalóide com uma estrutura dilactone e um átomo de nitrogênio não incluído em um anel heterocíclico, sendo encontrado no látex de três espécies de *Croton*: *C. draco*, *C. lechleri* e *C. palanostigma*. Esse composto tem sido obtido também de plantas fontes de benzilisoquinolinas e biogeneticamente relacionadas à alcalóides, como Berberidaceae e Magnoliaceae (SALATINO et al., 2007). A taspina foi isolada da casca e do látex desta espécie, que demonstrou ser o principal princípio ativo responsável pela cicatrização de feridas (CAI et al., 1993a; CAI et al., 1993b; CUNHA, 2007). O crescente interesse em estudos da seiva do *Croton lechleri* é principalmente devido à presença deste alcalóide (MONTOPOLI et al., 2012), o qual atua também como

importante estimulador da migração dos fibroblastos nas feridas (PIETERS, 1993). Tamanha a sua importância que diversos autores mencionam a necessidade de isolar a taspina e estudar o seu potencial individual (FAYAD et al., 2009; ROLLINGER et al., 2006; ZHANG et al., 2010). São também conhecidas as suas propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e por ter atividade citotóxica à células cancerígenas (PIETERS, 1993; MAIA et al., 2006). Se demonstrou que pode restringir o desenvolvimento de micélio do fungo *Leucoagaricus gongylophorus* L. (FRANCO et al., 2013), já ITOKAWA et al. (1991) relatam uma potente atividade contra células KB e V-79. Assim, a taspina tem ganhado destaque quando se avalia os extratos de *C. lechleri* e estudos futuros devem considerar cada vez mais a importância deste composto.

Aplicação Clínica:

A espécie *C. lechleri* é utilizada como planta medicinal há séculos, ela atua como anti-inflamatório, cicatrizante de feridas, antidiarréico, analgésico bucal e para a cura de úlceras estomacais (JONES, 2003; ZEVALLOS-POLLITO et al., 2007). O amplo uso popular ressalta a necessidade de realização de pesquisas, não só para demonstrar os efeitos terapêuticos do sangue de dragão e da taspina, como também para ajuste das indicações e doses. Esse tipo de pesquisa ainda é escasso, o que é potencializado pelo conceito errôneo de que plantas são medicamentos naturais, portanto livres de efeitos adversos. Outro ponto que deve sofrer averiguação científica é o seu potencial tóxico e mutagênico, uma vez que muitas plantas vêm sendo usadas como fitoterápicos sem nenhum conhecimento dos seus efeitos em grandes doses e/ou longo prazo (VIEIRA et al., 2009).

Teste de toxicidade aguda

Para ensaios de toxicidade, ROSSI et al. (2013) utilizaram ratos C57BL. A toxicidade aguda foi estimada administrando doses crescentes do látex, por via oral e intraperitoneal. Os animais foram observados diariamente durante 14 dias para mortalidade, mudanças comportamentais e outros sinais de toxicidade. O extrato do *Croton* mostrou uma dose letal para 50% da população (DL50) de 356 mg/kg por via intraperitoneal e 500 mg/kg por via oral, e indicou efeitos tóxicos moderados *in vivo*. As investigações toxicológicas averiguadas foram para eventual toxicidade de curto prazo, mas estudos de toxicidade a longo prazo devem também ser conduzidos, visto que efeitos adversos podem ocorrer depois de um período prolongado, de meses ou até mesmo anos (AYALA et al., 2010).

Em um estudo realizado por FÃO et al. (2012) analisou-se o

potencial mutagênico da seiva de *Croton lechleri* em raízes de cebola. Estes concluíram que não houve alteração, sendo indicativo da não ocorrência de mutagenicidade. Na mesma linha, ROSSI et al. (2003) observaram, em estudo realizado com teste Ames em estirpes de *Salmonella typhimurium* T98 e T100, que não houve atividade mutagênica. Estes mesmos autores demonstram que a mutagenicidade de 2-aminoantraceno foi completamente inibida em TA98, enquanto foi reduzida em mais de 90% na estirpe TA100, quando aplicado na presença do látex. Esses resultados demonstram ainda que a seiva exibe atividade antiproliferativa para células K562 (células humanas leucêmicas). Estes autores indicam, portanto, a segurança do uso de Sangue de Dragão como um remédio natural, sem riscos genotóxicos, além de sugerirem ação antitumoral e antimutagênica (ROSSI et al., 2003; JONES, 2003; SALATINO et

al., 2007). Pode-se concluir, assim, que a seiva desta planta possui baixa toxicidade celular, sendo a mesma tolerada para estudos clínicos.

Antiúlcera e atividade antidiarreica

Seu potencial como cicatrizante de úlceras gástricas e seu efeito antibacteriano foram comprovados em um estudo realizado por MILLER et al. (2000), no qual animais experimentais foram induzidos à ulceração gástrica e tratados com *C. lechleri*. A cura foi de uma magnitude semelhante ao grupo controle, que recebeu combinação de penicilina e estreptomicina. Observou-se que o conteúdo bacteriano da úlcera foi bastante reduzido, como também o teor de granulócitos, sendo elas menos inflamadas e com carga bacteriana menor, o que potencializou a cura, salientando a sua superioridade ao uso dos antibióticos por ter a ação antiinflamatória como aditivo. Essa ação é justificada pela variedade de produtos químicos que atuam em conjunto no

látex. Além disso, a seiva do *C. lechleri* estimula a secreção de pepsina, favorecendo a degradação de proteínas de fonte alimentar, consequentemente, melhorando a digestão e facilitando assim o processo de cicatrização gástrica, explicando assim seu uso e sua eficácia em casos de dispepsia gástrica. A administração oral da seiva de sangue de dragão também tem um efeito antioxidante em mucosa gástrica reduzindo a peroxidase, o que aumenta a sua ação citoprotetora (SANDOVAL et al., 2006).

O uso dessa seiva como antidiarreico já foi bem estabelecido (JONES, 2003) e novos estudos edificam o conhecimento sobre esse tema. Se demonstrou que o seu uso leva a uma diminuição ou bloqueio da capsaicina, podendo limitar a diarreia por reduzir a secreção de fluido intestinal. Isso se deu pela sua capacidade de inibir, de forma seletiva,

a circulação de eletrólitos epiteliais (SANVODAL et al., 2008).

Anticancerígena

A atividade de proteção do *C. lechleri* contra mutagenicidade através de sua atividade biológica sugere seu emprego como adjuvante no tratamento contra câncer e como preventivo em alimentos funcionais (ROSSI et al., 2003). Em outro estudo do mesmo grupo, feito para comprovar esta hipótese, se avaliou o efeito antiproliferativo do sangue de dragão, testado contra linhagem de carcinoma de células do cólon humano (LoVo) e carcinoma hepatocelular humano (HepG2) e demonstraram, mais uma vez, a eficácia anticâncer desta planta amazônica e seus derivados. Estes autores sugerem o *C. lechleri* como aditivo alimentar, visto que oferece uma proteção eficaz contra o potencial mutagênico das aminas heterocíclicas presentes nos alimentos. CASTRO et al. (2012) também demonstraram efeitos

citotóxicos sobre as linhas de células cancerosas humanas e exerceu efeitos antitumorais em camundongos, eles demonstraram também toxicidade aguda moderada do *Croton lechleri* sobre as células HeLa (câncer cervical) e SKOV3 (câncer de ovário). Nessa mesma linha, MONTOPOLI et al., (2013) demonstrou resultados promissores nas linhagens celulares SK23 (melanoma humano) e HT29 (tumor intestinal). BEZERRA et al., (2009) trabalhou com *Croton regelianus*, obtendo uma inibição do crescimento do tumor em 59%, o que indica que as espécies *Croton* pode ser um importante fonte de compostos com efeitos antitumorais e citotóxicos em células HeLa. O óleo essencial extraído da casca do tronco do *Croton lechleri*, em um estudo realizado por ROSSI et al., (2011), apresentou-se como não citotóxico e é genotoxicamente seguro nas condições testadas com

interessantes propriedades protetoras para a mutagenicidade.

Ginecologia

O uso do *Croton* para tratamentos ginecológicos já foi estabelecido (JONES, 2003), e seu efeito sobre tumores genitais (BEZERRA et al., 2009; CASTRO et al., 2012) pode ser o motivo real de sua eficácia no uso popular. Para averiguar a segurança de se usar o *C. lechleri* para esse fim, AYALA et al. (2010) avaliaram o efeito irritante deste em genitalia de coelhas. Foi realizada administração tópica intravaginal de duas concentrações (1% e 5%), para a avaliação da toxicidade, sendo observadas as condições médicas em geral e a aparência física da vagina e períneo como também as marcas de fluxo, eritema e edema. Não houve aspectos clínicos significativos e o uso do extrato vegetal parece seguro nesses casos.

Demais efeitos terapêuticos

A seiva do *C. lechleri* tem diversas outras funções terapêuticas descritas, incluindo ação imuno estimulante, antibacteriana, antiviral, além de ser indicada contra diarreias de diversas causas, inclusive aquelas associadas ao vírus da imunodeficiência humana. Estas funções, incluindo ensaios pré-clínicos e clínicos conduzidos com o sangue de dragão, foram revisadas por JONES (2003). Este mesmo autor relata o uso de produtos comerciais a base de sangue de dragão, disponíveis nos Estado Unidos. O NSF (Normal Stool Formula™) é um suplemento alimentar cuja função é promover a produção de fezes normais (controlar diarreia crônica). O principal principio ativo neste produto, de acordo com os produtores, é a taspina e o produto também já sofreu ensaios clínicos indicativos de sua eficácia.

Considerações Finais:

Conforme descrito e concordando com o que vem sendo demonstrado para o sangue de dragão, a maioria dos estudos realizados com este composto confirma a função sugerida na medicina popular. Evidentemente que há um viés de publicação nestes casos, sendo que aqueles efeitos que são avaliados e negados raramente são publicados. De qualquer forma, não há dúvidas que o látex obtido a partir da seiva de *C. lechleri* tem atividades biológicas diversas, muitas das quais podem e devem ser aplicadas na medicina humana e veterinária.

O mercado brasileiro parece ainda ser muito receptivo às receitas tradicionais de fitoterápicos, sendo pouco exigente quanto a sua validação científica. Sendo assim, ensaios clínicos, com compostos devidamente caracterizados e manipulados, não são tão comuns no país. Entretanto, em outros países, o sangue de dragão e a

taspinina já estão sendo usados em produtos comerciais ligados à indústria farmacêutica (vide JONES 2003). As recentes exigências da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) com relação à caracterização e validação de fitoterápicos pode mudar esse cenário. Por outro lado, quando a exigência de fiscalização e validação parte do mercado consumidor, a pressão sobre as empresas produtoras é muito maior e o Brasil ainda carece de consumidores educados nesse sentido, com relação a produtos da medicina tradicional.

Árvores do gênero *Croton* são de ampla distribuição na metade norte do Brasil e algumas plantações para exploração da seiva são conhecidas, ainda que pouco tecnificadas. Sendo assim, a validação dos efeitos terapêuticos dessa seiva também vem ao encontro ao interesse econômico de comunidades de pequenos produtores destas regiões, que se beneficiariam de

um interesse industrial tanto do látex bruto quanto da taspina por parte da indústria farmacêutica.

Neste estudo, ficou claro que o número de experimentos para comprovar e/ou validar funções e aplicações do sangue de dragão parece ter desacelerado desde a publicação do trabalho de JONES (2003) e pouco foi realizado com relação a ensaios clínicos em medicina humana ou veterinária. Os principais avanços parecem ter sido na questão da toxicidade e da segurança do uso deste extrato vegetal. Os ensaios de toxicidade que vem sendo desenvolvidos, ainda que estejam em fase preliminar, vão de encontro com aquilo que esta sendo exigido pela ANVISA. A seiva de *C. lechleri* parece ser pouco tóxica, o que permite sua ampla aplicação para fins terapêuticos. Da mesma forma, ensaios de mutagenicidade também não demonstraram riscos. Entretanto, para o uso seguro, este composto ainda carece

de uma série de ensaios que devem ser conduzidos em experimentos controlados. A toxicidade crônica tem de ser determinada, bem como níveis de irritabilidade cutânea e ocular. O uso seguro de fitoterápicos é uma tendência e agências de proteção ao consumidor parecem estar exigindo cada vez mais que se trate fitoterápicos com a mesma exigência que outros fármacos, tanto no Brasil como em outros países.

Estudos relacionados à ação antidiarreica, bem como outros efeitos entéricos, também demonstraram avanço. Esta é a função mais bem descrita do sangue de dragão, bem como aquela para qual o mercado já esta estabelecido. Não havendo dúvidas quanto ao seu valor terapêutico, espera-se que o fitoterápico seja dado seu merecido destaque pela indústria farmacêutica brasileira. Outra área que parece ter tido algum avanço é a da ação antitumoral, ainda que a maioria dos estudos desenvolvidos nos últimos dez

anos tenha sido *in vitro*, estes tem gerado resultados promissores e estudos em animais devem ser conduzidos.

Outras funções parecem evidentes e devem ser exploradas por pesquisadores. A necessidade da planta produzir um composto com ausência de taspina para atrair formigas parece indicar que esta tenha ação nociva ou repelente a insetos e esta função deve ser avaliada. Da mesma forma, outras linhas de pesquisa promissoras parecem ter ficado estagnadas nos últimos dez anos. Estudos com relação à utilização do sangue de dragão como auxiliar na cicatrização de feridas cutâneas devem ser retomados, bem como no tratamento de picaduras de insetos.

Conclusão

Parece evidente que o sangue de dragão, bem como a taspina, seu composto majoritário, tem funções diversas que devem ser exploradas por pesquisadores brasileiros. No entanto, existe um vazio de informações sobre os

seus mecanismos de ação, a amplitude de suas aplicações e como eles podem ser combinados com outras abordagens terapêuticas. Nos últimos dez anos a pesquisa com esta seiva não foi tão produtiva em números como no passado, mas os estudos publicados são de alto valor científico e técnico. Esta pesquisa deve ser retomada tanto para nos tornarmos competitivos com os produtos que estão sendo comercializados a base de *C. lechleri* no exterior, quanto para fornecermos um produto de uso seguro e função validada ao nosso mercado consumidor.

Agradecimentos

Os autores agradecem a CAPES e CNPq por conceder bolsas (CNPq – 305072/2012-9)

Referências Bibliográficas

AHMAD, R.; KHAN, A. V.; SIDDIQUI, M. F.; HASNAIN, A. U. Effects of an aqueous extract of *Croton bonplandianum* Baill in rats. **Environmental**

Toxicology and Pharmacology,

v.26(3), p.336-41, 2008.

ALONSO-CASTRO, A. J.; SÁNCHEZ, E. O.; DOMÍNGUEZ, F.; TOLEDO, G. L.; CHÁVEZ, M.; TELLO, A. J. O.; CARRANCÁ, A. G.. Antitumor effect of *Croton lechleri* Mull. Arg. (Euphorbiaceae). **Journal of Ethnopharmacology**, v.140, p.438–442, 2012.

AMARAL, A. C. F.; BARNES, R. A. Alkaloids of *Croton celtidifolius*. *Planta Medica*. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.141, p.399–436, 1997.

AZEVEDO, K. A. A.; LIMA, Á.; LEITE, A.; MELO, T.; COSTA, J.; PEREIRA, M. A.; CAMPOS, C. A.; LIMA, A. **Guia para a extração de sangue de grado (*Croton lechleri* Müll. Arg.):** recomendações técnicas para a extração de látex de sangue de grado (sangue de dragão). Rio Branco-AC: USAID/IPAM, 28p. 2008.

AYALA, S.; ROJAS, J.; DÍAZ, D.; JUÁREZ, J.; DELGADO, C. Evaluación de la toxicidad vaginal de *Croton lechleri* en conejas. **Anales de la Faculade de Medicina**, v.71(2), p.83-7, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos.

Programa Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos, Brasília, v.135, 2009.

BRITO, N. D. S.; LIMA A. F.; COSTA, J. L.; TAVEIRA, U. S.; AZEVEDO K. S. Inventário e estudo da estrutura populacional de sangue de grado (*Croton lechleri* Muell. Arg.) para o manejo florestal comunitário no leste do estado do Acre, Brasil. **Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil**, Caxambu – MG, 2007.

- BEZERRA, D. P.; MARINHO FILHO, J. D.; ALVES, A. P.; PESSOA, C.; MORAES, M. O.; PESSOA, O. D.; TORRES, M. C.; SILVEIRA, E. R.; VIANA, F. A.; LOTUFO, L. V. C. Antitumor activity of the essential oil from the leaves of *Croton regelianus* and its component ascaridole. **Chemistry biodiversity**, v.6(8), p.1224-1231, 2009.
- CAI, Y.; EVANS, F. J.; ROBERTS, F. M.; PHILLIPSON, J. D.; ZENK, H. M.GLEBAS Y. Y. Polyphenolic compounds from *C.lechleri*. **Phytochemistry**, v.30(6), p.2033-2040, 1991.
- CAI, Y.; CHEN, Z. P.; PHILLIPSON, J.D. Diterpenes from *C.lechleri*. **Phytochemistry**, v.34 (1), p.755-760, 1993a.
- CAI, Y.; CHEN, Z. P.; PHILLIPSON, J.D. Clerodanes diterpenoids from *C. lechleri*. **Phytochemistry**, v.34(1), p.265-268, 1993b.
- COSTA, R. M. A.; MENK, C. F. M. Biomonitoramento de mutagênese ambiental. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, p.24-26, 2000.
- CUNHA, M. C. Relações e dissensões entre saberes tradicionais e saber científico. **Revista da USP**, São Paulo, v.75, p.76-84, 2007.
- DI STASI, L.C.; HIRUMA-LIMA, C.A. **Plantas Medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. Revista São Paulo: UNESP, 2d. 592p., 2002.
- DINIZ, V. W. B.; DANTAS FILHO, H. A.; MÜLLER. R. C. S. K. G. FERNANDES. Classificação multivariada de ervas medicinais da região amazônica e suas infusões de acordo com sua composição mineral. **Química Nova**, v.36, n.2, p. 257-261, 2013.
- CRONQUIST, A. **The evolution and classification of flowering plants**. The New York Botanical Garden Press. 2ed, New York, USA. 555p., 1988.

- ECKSTEIN, P.; TACKSON, M.; MILLMAN, N.; SOBRERO, A. Comparison of vaginal tolerance test of spermicidal preparation in rabbits and monkeys. **Journal Of The Society For Reproduction And Fertility**, v.20, p.85-93, 1996.
- FÃO, F.; ZAN, R. A.; BRONDANI, F. M. M.; RAMOS, L. J.; MENEGUETTI, D. U. O. Análise do potencial mutagênico da seiva da casca de *Croton lechleri* (müll. arg), no estado de Rondônia, Amazônia Ocidental. **SaBios: Revista de Saúde e Biologia**, v.7, n.1, p. 91-98, 2012.
- FAYAD, W.; FRYKNAS, M.; BRNJIC, S.; OLOFSSON, M. H.; LARSSON, R.; LINDER, S. Identification of a novel topoisomerase inhibitor effective in cells overexpressing drug efflux transporters. **PLoS One**, v.4(10), p.7238, 2009.
- FRANÇA-NETO, A.; TEIXEIRA, A. C.; MEDEIROS T. C.; FARIAS, M. D. O. S. Q.; SAMPAIO, C. M.; SOUZA, A. N. C.; LAHLOU, S.; CARDOSO, J. H. L. Essential oil of *Croton argyrophylloides*: toxicological aspects and vasorelaxant activity in rats. **Natural Product Communications**, v.7(10), p.1397-400, 2012.
- FRANCO, A. P.; PERES, A. R.; SOUZA, M. F. P.; QUEIROZ, M. S.; ASSIS, J. M. F. Ação de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fungos simbioses das formigas cortadeiras. **Engenharia Ambiental - Espírito Santo do Pinhal**, v.10, n.1, p.103-113, 2013.
- FORERO, L. E.; CHÁVEZ, J.; BERNAL, H. Agrotecnología para el cultivo de sangre grado. Fundamentos de agrotecnología del cultivo de plantas medicinales iberoamericanas. **Convênio Andrés Bello/Ciencia y Tecnología para el Desarrollo**, Bogotá. p.157-190, 2000.
- GOVAERTS, R.; FRODIN, D. G.; SMITH, A. R. World Checklist and

bibliography of Euphorbiaceae (with Pandaceae). **The Royal Botanic Gardens, Kew**, p.1-4, 2000.

GUIMARÃES, L. A. C.; SECCO, R. S. As espécies de *Croton* L. sect. *Cyclostigma* Griseb. e *Croton* L. sect. *Luntia* (Raf.) G. L. Webster subsect. *Matourenses* G. L. Webster (Euphorbiaceae s.s.) ocorrentes na Amazônia brasileira. **Acta Amazonica**, v.40(3), p.471 – 488, 2010.

FRANCO, A. P.; PERES, A. R.; SOUZA, M. F. P.; QUEIROZ, M. S.; ASSIS, J. M. F. Flavonoids from the Stems of *Croton caudatus* Geisel. var. *tomentosus* Hook. **Molecules**, v.15, p.1097-1102, 2010.

ITOKAWA, H.; ICHIHARA, Y.; MOCHIZUKA, M.; ENOMORI, T.; MORITA, H.; SHIROTA, O.; INAMATSU, M.; TAKEYA, K. A cytotoxic substance from Sangue de Grado. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v.39, p.1041-1042, 1991.

JONES, K. Review of sangre de drago (*Croton lechleri*) - a South American tree sap in the treatment of diarrhea, inflammation, insect bites, viral infections and wounds: traditional uses to clinical research. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 9, p.877-896, 2003.

KING, S. R.; MEZA, E.; AYALA, F.; FORERO, L. E.; PENA, M.; ZAK, V.; BASTIEN, H. *Croton lechleri* and the sustainable harvest and management of plants in pharmaceuticals, phytomedicines and cosmetics industries. International Symposium on Herbal Medicine. **International Institute for Human Resources Development/College of Health and Human Services/ San Diego State University, San Diego, CA**. p. 305–333, 1997.

LEAL, I. R. **Dispersão de sementes por formigas na caatinga**. Ecologia e conservação da caatinga. Recife:

Editora Universitária da UFPE, p. 593–624, 2003.

LOPES, D.; BIZZO, H. R.; SÁ-SOBRINHO, A. F.; PEREIRA, M. V. G. Essential oil from leaves of *Croton sacaquinha* Benth. **The Journal of Essential, Oil Research**, v.15(1), p.48-49, 2003.

MACIEL, M. A. M. et al. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v.25, p.429-438, 2002.

MAIA, J. M. A.; CZECZKO, N. G.; RIBAS FILHO, J. M.; DIETZ, U. A.; DUCK, D.; RIBAS, C. A. P. M.; SANTOS, E. A.; BAPTISTELLA, E.; WALLBACH, T. Z.; VALE, J. R.; YAGUSHITA, N. Estudo da cicatrização de suturas na bexiga urinária de ratos com e sem a utilização de extrato bruto de *Jatropha gossypifolia* L. intraperitoneal. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.21 (Suplemento 2), 2006.

MURILLO, R. M.; JAKUPOVIC, J.; RIVERA, J.; CASTRO, V. H. Diterpenes and other constituents from *Croton draco* (Euphorbiaceae). **Revista de Biologia Tropical**, 49(1): p. 259-264, 2001.

MARINO, S.; GALA, F.; ZOLLO, F.; VITALINI, S.; FICO, G.; VISIOLI, F.; IORIZZI, M. Identification of Minor Secondary Metabolites from the Latex of *Croton lechleri* (Muell-Arg) and Evaluation of Their Antioxidant Activity. **Molecules**, 13, p. 1219-1229, 2008.

MILANOWSKI, D. J.; WINTER, R. E. K.; ELVIN-LEWIS, M. P. F.; LEWIS, W. H. Geographic distribution of three alkaloid chemotypes of *Croton lechleri*. **The Journal of Natural Products**, v.65, p.814-819, 2002.

MILLER, M. J. S.; MACNAUGHTON, W. K.; ZHANG, X. J.; THOMPSON, J. H.; CHARBONNET, R. M.; BOBROWSKI, P.; LAO, J.;

- TRENTACOSTI, A. M.; SANDOVAL, M. Treatment of gastric ulcers and diarrhoea with the Amazonian herbal medicine sangre de grado. **American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology**, v.279, p.192-200, 2000.
- MONTOPOLI, M.; BERTIN, R.; CHEN, Z.; BOLCATO, J.; CAPARROTTA, L.; FROLDI, G. Croton lechleri sap and isolated alkaloid taspine exhibit inhibition against human melanoma SK23 and colon cancer HT29 cell lines. **Journal of Ethnopharmacology**, v.144, p.747-753, 2012.
- NEIVA, T. J. C.; MORAES, A. C. R.; BUCHELE, C.; PIZZOLATTI, M. G.; D'AMICO, E. A.; FRIES, D. M. ROCHA, T. R. F. Antiplatelet activity of *Croton celditifolius*. **Revista Brasileira de Ciências Farmacológicas**, v.44, n.1, p.133-141, 2008.
- OLIVEIRA, A. C.; CARDOSO, J. H. L.; SANTOS, C. F.; MORAIS, S. M.; SOUZA, A. N. C. Antinociceptive effects of the essential oil of *Croton zehntneri* im mice. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 34, p.1471-1474, 2001.
- OLIVEIRA, F. C. S.; BARROS, R. F. M.; MOITA NETO, J. M. Plantas medicinais utilizadas em comunidades rurais de Oeiras, semiárido piauiense. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v.12, n.3, p.282-301, 2010.
- PALAZZINO, G.; FEDERICI, E.; RASOANAIVO, P.; GALEFFI, C.; MONACHE, F. D. 3,4 - seco diterpenes of *Croton geayi*. **Gazzeta Chimica Italiana**, v.127, p.311-314, 1997.
- PERCY, A.; ZEVALLOS, P.; FILHO, M. T. Espécies lenhosas do gênero *Croton* L. (Euphorbiaceae) No Estado do Acre. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, supl.2, p.177-179, 2007.

- PIETERS, L. Isolation of dihygrobenzofuran lignan from South American dragon's blood (*Croton* sp) as an inhibitor of cell proliferation. **Journal Natural Products**, v.56, n.6, p.889-906, 1993.
- REIS, P. S.; ESTEVAM, I. H. S.; SANTOS, W. P. C.; KORN, M. G. A.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; ARAÚJO, R. G. O.; PIMENTEL, M. F.; FERREIRA, S. L. C. Mineral composition of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown leaves. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.21, n.10, p.1905-1909, 2010.
- ROLLINGER, J. M.; SCHUSTER, D.; BAIER, E.; ELLMERER, E. P.; LANGER, T.; STUPPNER, H. Taspine: bioactivity-guided isolation and molecular ligand-target insight of a potent acetyl-cholinesterase inhibitor from *Magnolia x soulangiana*. **Journal of Natural Products**, v.69, p.1341-1346, 2006.
- ROSSI, D.; GUERRINI, A.; PAGANETTO, G.; BERNACCHIA, G.; CONFORTI, F.; STATTI, G.; MAIETTI, S.; POPPI, I.; TACCHINI, M.; SACCHETTI, G. *Croton lechleri* Mull. Arg. Euphorbiaceae) stem bark essential oil as possible mutagen-protective food ingredient against heterocyclic amines from cooked food. **Food Chemistry**, v.139, p.439-447, 2013.
- ROSSI, D.; BRUNI, R.; BIANCHI, N.; CHIARABELLI, C.; GAMBARI, R.; MEDICI, A.; LISTA, A.; PAGANETTO, G. Evaluation of the mutagenic, antimutagenic and antiproliferative potential of *Croton lechleri* Muell. Arg. latex. **Phytomedicine**, v.10, p.139-144, 2003.
- ROSSI, D.; GUERRINI, A.; MAIETTI, S.; BRUNI, R.; PAGANETTO, G.; POLI, F.; SCALVENZI, L.; RADICE, M.; SARO, K.; SACCHETTI, G. Chemical fingerprinting and bioactivity of Amazonian Ecuador *Croton lechleri*

- Müll. Arg. (Euphorbiaceae) stem bark essential oil: A new functional food ingredient? **Food Chemistry**, v.126, P. 837–848, 2011.
- SANDOVAL, M.; AYALA, S.; ORÉ, R.; LOLI, A.; HUAMÁN, O.; VALDIVIESO, R.; BÉJAR, E. Capacidad antioxidante de la sangre de grado (*Croton palanostigma*) sobre la mucosa gástrica, en animales de experimentación. **Anales de la Facultad de Medicina**, v.67(3), p.199-205, 2006.
- SANVODAL, M.; AYALA, S.; ORÉ, R.; LOLI, R.; HUAMÁN, O. Estimulación de la actividad péptica del jugo gástrico, inducida por látex de *Croton palanostigma* (sangre de grado). **Anales de la Facultad de Medicina**, v.69(3), p.164-167, 2008.
- SALATINO, A.; FARIA SALATINO, M. L.; NEGRI, G. Traditional uses, chemistry and pharmacology of *Croton* species (Euphorbiaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.18(1), p.11-33, 2007.
- SECCO, R. S. A new species de *Croton* sect. *Geiseleria* (Euphorbiaceae) from Eastern Amazonian, Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**, v.32(2), p.249-252, 2009.
- SILVA, L. K.; FILHO, C. V. Plantas do gênero Bauhinia: Composição Química e potencial farmacológico. **Química Nova**, v.25(3), p.449-454, 2002.
- SECCO, R. S.; BERRY, P. E.; ROSA, N. A. *Croton diasii* and *Croton trombetensis* two new Euphorbiaceae from Amazonian, Brazil. **Novon**, v.11(1), p.119-123, 2001.
- SILVA, R. M.; OLIVEIRA, F. A.; CUNHA, K. M.; MAIA, J. L.; MACIEL, M. A.; PINTO, A. C. Cardiovascular effects of trans-dehydrocrotonin, a diterpene from *Croton cajucara* in rats. **Vascular Pharmacology**, v.43(1), p.11-18, 2005.

- SMITH, B.A. A new species of *Croton* (*Euphorbiaceae*) from Ecuador. department of environmental studies, Emory University, 400 downman drive, Atlanta Georgia. Novon. **A Journal For Botanical Nomenclature From The Missouri Botanical Garden**, v.16, n.1, p.273-274, 2006.
- UBILLAS, R.; JOLAD, S. D.; BRUENING, R. C.; KERNAN, M. R.; KING, S. R. ; KING SESIN, D. F.; BARRETT, M.; STODDART, C. A.; FLASTER, T.; KUO, J.; AYALS, F.; MEZA, E.; CASTANEL, M.; MCMEEKIN, D.; ROZHON, E.; TEMPESTA, M. S.; BARNARD, D.; HUFFMAN, J.; SMEE, D.; SIDWELL, R.; SOIKE, K.; BRAZIER, A.; SAFRIN, S.; ORLANDO, R.; KENNY, P. T. M.; BEROVA, N.; NAKANISHI, K. SP-303, An antiviral oligomeric proanthocyanidin from the latex of *Croton lechleri* (Sangre de Drago). **Phytomedicine**, v.1, p.77-106, 1994.
- VALLE, J. S.; FONSECA, B. K. D.; NAKAMURA, S. S.; LINDE, G. A.; MATTANA, R. S.; MING, L. C.; COLAUTO, N. B. Diversidade genética de populações naturais de pariparoba [Pothomorphe umbellata (L.) Miq.] por RAPD. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.15, n.1, p.47-53, 2013.
- VIEIRA, A. et al. Efeito genotóxico da infusão de capítulos florais de camomila. **Revista Trópica. Ciências Agrárias e Biológicas**, v.3, n.1, 2009.
- WEBSTER, G.L. A provisional synopsis of the section of the genus *Croton* (*Euphorbiaceae*). **Annals of Missouri Botanical Garden**, v.81(1), p.3-32, 1993.
- ZEVALLOS-POLLITO, P. A. Z.; TOMAZELLO, M. F. Espécies lenhosas do gênero *Croton* L. (*Euphorbiaceae*) no Estado do Acre. **Revista Brasileira de Biociências**, v.5(2), p.177-179, 2007.
- ZHANG, Y.; HE, L.; ZHOU, Y. Taspine isolated from Radix et Rhizoma

Leonticis inhibits growth of human (HUVEC) by inducing its apoptosis.
umbilical vein endothelial cell **Phytomedicine**, v.15, p.112-119, 2008.

Tabela 1. Espécies de *Croton* e suas respectivas distribuições geográficas como também suas descritas indicações terapêuticas citados em publicações recentes.

Table 1. *Croton* species and their geographic distribution as well as their therapeutic indications described in recent publications cited.

Espécie	Distribuição	Indicação Terapêutica	Referencia
<i>C. argyrophylloides</i>	América	Diabetes e as doenças venéreas	FRANÇA- NETO et al., 2012
<i>C. bonplandianum</i>	Ásia/América	Repelente contra os insetos	AHMAD <i>et al.</i> , 2008
<i>C. cajucara</i>	Brasil	Analgésico, anti-inflamatório, antiulcerogênico, hipoglicêmico, hipolipidêmico	SILVA <i>et al.</i> , 2005
<i>C. caudatus</i>	América/Ásia	Tratamento da malária, febre ardente, convulsões, artrite reumática e dormência.	CHOI <i>et al.</i> , 2010
<i>C. celtidifolius</i>	Brasil	Tratamento de doenças inflamatórias	NEIVA <i>et al.</i> , 2008
<i>C. lechleri</i>	América	Tosse, gripe, diarreia, úlceras gástricas, cicatrizante, tratar herpes, germicida após extração dental e feridas bucais	MUNILLO <i>et al.</i> , 2001
<i>C. lechleri</i>	América	Anti-inflamatória, antibiótica, antioxidante e cicatrizante	FÃO <i>et al.</i> , 2012
<i>C. lechleri</i>	América	Anti-inflamatória, analgésico bucal, cicatrização de úlcera gástrica, antidiarreico,	ZEVALLOS-POLLITO <i>et al.</i> , 2007
<i>C. palanostigma</i>	Brasil	Cura de feridas, antimicrobiano, controlador da diarreia, cicatrização de úlcera gástrica, tratar inflamação intestinal e anti-emético.	MILLER <i>et al.</i> , 2000
<i>C. zehntneri</i>	América	Sedativo, estimulante de apetite, estomáquico, antiespasmódico, anti-anorexígeno, analgésico, ansiolítico, tratamento de distúrbios gastrintestinais, irritabilidade e ansiedade	OLIVEIRA <i>et al.</i> , 2001).

3.2 Artigo 2

Sangue de Dragão (*Croton lechleri* Mull., Arg.): Avaliação da ação cicatricial da seiva em feridas cutaneas.

LOPES, T.V.*¹; FERNANDES, C. P. M.¹; MELO, T. L.³; RAMOS, T. S².; FÉLIX, A. O. C.¹; FELIX, S.R. ¹; SCHONS, S.V.³; NOBRE, M.O¹.

Irá ser submetido à Revista Brasileira de Plantas Mediciniais

Sangue de Dragão (*Croton lechleri* Mull., Arg.): Avaliação da ação cicatricial da seiva em feridas cutâneas

LOPES, T.V.*¹; FERNANDES, C. P. M.¹; MICHELON, L.¹; FÉLIX, A. O. C.¹; FELIX, S.R. ¹;
NOBRE, M.O.¹; RAMOS, T. S.²; MELO, T. L.³; SCHONS, S.V.³.

¹ Programa de Pós Graduação em Veterinária – Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Caixa postal 354 – Campus Universitário, CEP: 96010-900 – Pelotas/RS

*thiagovlopes@hotmail.com

² Faculdade de Odontologia – Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Rua Gonçalves Chaves , 457 , Centro, Pelotas – RS.

³ Departamento de Medicina Veterinária - Campus de Rolim – Universidade Federal de Rondônia (UNIR) Av. Norte Sul, 7300 - Nova Morada, CEP: 78987-000 Rolim de Moura – RO

RESUMO

A seiva do *Croton lechleri* é amplamente utilizada na região amazônica brasileira empiricamente, para o tratamento de lesões dermatológicas. Entretanto, ainda são necessários estudos *in vivo* sobre a ação cicatrizante dessa planta, neste contexto objetivou-se avaliar a cicatrização de feridas cutâneas abertas de ratos, tratadas com *C. Lechleri*. *Material e métodos*: foram realizadas duas incisões no dorso de ratos wistar, sob efeito de anestesia, para confecção das feridas. Os animais foram divididos em três grupos de tratamento, o grupo I utilizou a concentração de 0,1 µg já o grupo II a de 1 µg e o grupo III foi tratado apenas com creme não iônico(controle). As feridas foram tratadas diariamente e avaliadas clinicamente, morfométricamente, bioquimicamente e histologicamente aos quatro, sete, 14 e 21 dias de tratamento, e estudo tensiométrico foi realizado aos 21 dias. *Resultados*: clinicamente não foram observadas diferenças entre os grupos ($p>0,05$). No estudo morfométrico, observou-se aos quatro dias de tratamento no grupo II maior média de área (32,6 mm²) e a menor aos sete dias de tratamento (10,5 mm²) comparada aos demais grupos. Histologicamente o grupo II demonstrou aos sete dias, um melhor resultado com 66% de suas amostras na fase proliferativa. No estudo tensiométrico, o grupo II apresentou a maior média (4,4065 MPa), não sendo observada

diferença estatística com os demais grupos ($p>0,05$). **Conclusão:** *C. lechleri* a 1 μg acelera o processo cicatricial levando a diminuição da ferida aos sete dias de tratamento e produzindo uma cicatriz mais resistente, apresentando resultados satisfatórios como cicatrizante.

Palavras-chave: *Croton Lechleri*, sangue de dragão, cicatrização, ratos.

ABSTRACT

Croton lechleri sap is widely used in the Amazonian region for the empiric treatment of skin wounds. However, this action has yet to be academically described, confirmed or denied. Therefore, the objective of this study was to assess the healing evolution of wounds treated with *C. lechleri* sap. Two wounds were produced in the backs of each rat ($n=90$), after due anesthesia. The wounds were then treated according to the designated group: 0.0001% *C. lechleri* sap (group I); 0.001% *C. lechleri* sap (group II); and non-ionic cream control (group III). The wounds were dressed daily, and the clinical, morphometric, biochemical, and histological assessments were made on days four, seven, 14 and 21. After 21 days a tensiometric study was also conducted. Clinically, there was no difference among treatments at four days. Wound size did differ, with wounds in group II presenting a greater mean area (32.6 mm^2) ($P<0.05$). However, these showed a rapid reduction, having the lowest mean area by day seven (10.5 mm^2). Histologically, group II had most wounds in the proliferative stage by day seven 66%, the most among all groups. The tensiometric assay also favored group II, with the greatest rupture strength overall (4.41 MPa), however, no statistically significant difference was observed ($P>0.05$). The sap of *C. lechleri* at 0.001% seems to hasten the healing process, rapidly shrinking the wound within seven days, and producing a scar tissue capable of resisting greater pressure. In this light,

this compound should be considered in the composition of plant based, wound healing balms.

Key Words: *Croton Lechleri*, dragon's blood, wound healing, rats.

INTRODUÇÃO

Durante séculos a medicina popular vem acumulando conhecimento empírico sobre o uso e a eficácia das plantas medicinais, sendo estas em alguns casos, o único recurso terapêutico de várias comunidades e grupos étnicos, com pouco ou nenhum acesso a serviços formais de saúde (VALLE et al., 2013). A espécie *C. lechleri* é conhecida popularmente como sangue de dragão, sangue de grado ou sangue de drago (PERCY et al., 2007) amplamente distribuída no bioma amazônico (DI STASI, 2002). Estudos farmacológicos e clínicos realizados com esta planta até 2002 foram reunidos por JONES (2003) e até o ano de 2013 por LOPES et al. (2013), os quais descreveram atividade anti-inflamatória, antibiótica, antioxidante e cicatrizante, sendo essa ultima a mais empregada empiricamente (LOPES et al., 2013).

O látex do *Croton lechleri*, apreseta quimicamente compostos polifenólicos dentre muitos outros, sendo um alcaloide denominado de taspina, o seu constituinte mais importante (CAI et al., 1993a)

A solução de continuidade da pele decorrente ao trauma caracteriza uma ferida, sendo os seus tecidos subjacentes expostos, dar-se então o inicio da cicatrização. A cicatrização é constituída por um processo dinâmico para manter e reestabelecer a integridade do organismo, sendo que para isso são envolvidas diferentes etapas, tais como a inflamatória, quimiotaxia, proliferativa e remodelação (ROSA et al., 1983). O emprego do tratamento adequado na injúria tissular é de suma importância, a fim de promover uma cicatrização adequada (MANDELBAUM et al., 2003; KUMAR et al. 2007).

A validação científica dos fitoterápicos é importante para a comprovação dos seus efeitos farmacológicos e colaterais, dosagem e também da sua toxicidade (FERNANDEZ et al., 1996). Sendo assim, objetivou-se avaliar o processo cicatricial de feridas em ratos Wistar, tratadas com *C. lechleri* nas concentrações de 0,1 µg e 1 µg através de análises clínica, morfométrica e histológica e ainda avaliar a força e tensão das cicatrizes cutâneas resultantes do tratamento com *C. lechleri*.

MATERIAL E MÉTODOS

Extração do látex e preparo dos tratamentos

A extração da seiva do sangue de dragão (*C. lechleri*) foi realizada através do corte no tronco da árvore, mesmo método empregado para a extração do látex, na primavera. A coleta foi realizada na cidade Porto Velho, em Rondônia, na divisa com o estado do Acre, as margens do rio Madeira, nas seguintes coordenadas geográficas -9° 39' 28. 63", -65° 25' 59.20". Foi também colhido um galho fértil e encaminhado para identificação no Herbário HFSL da Faculdade São Lucas em Porto Velho, registrado então com o número 6723.

A seiva do *C. lechleri* foi manipulada e apresentada em forma de pomada, sendo veículo o creme não iônico, nas seguintes concentrações, 0,1 µg/ml e 1 µg/ml, obtidas a partir de ensaios *In vitro*.

Animais experimentais e separação dos grupos

O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética e Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas/ UFPel (CEEAA 7605). Foram utilizados 90 ratos (*Rattus norvegicus*) Wistar, machos com idade entre 60 a 70 dias, com peso médio de 180g, oriundos do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas.

Os animais foram divididos aleatoriamente em três grupos experimentais, sendo o grupo I e II tratados respectivamente com 0,1 µg, 1 µg da seiva de *C. lechleri* e o grupo III, controle, tratado com creme não iônico. Cada grupo era composto por 30 animais, que foram mantidos e alojados em caixas plásticas padrão, com dois animais por caixa, com controle de temperatura e umidade, e oferta de alimentos conforme recomendado e água a vontade, durante todo o período experimental. Aos 4, 7, 14 e 21 dias foram realizadas eutanásias conforme Resolução nº. 1000 de 12 de maio de 2012 do CFMV, para avaliação do processo cicatricial, através de avaliações clínicas, morfométricas e histopatológicas e aos 21 dias além destas análises também foi feita avaliação tensiométrica.

Confecção e tratamento das feridas

Para a realização das feridas cutâneas, todos os animais foram previamente anestesiados com atropina (5mg/kg por via subcutânea), e a associação de xilazina (10mg/kg) e quetamina (100mg/kg por via intramuscular). Foi realizada a tricotomia na região de dorso com extensão de 4,0 x 3,0cm seguido da limpeza da pele com álcool etílico hidratado 70º, sendo então realizadas duas incisões no dorso de cada animal com o *punch* (8mm). Diariamente as feridas foram limpas com solução fisiológica e tratadas com 0,1 mL de pomada de acordo com o grupo experimental.

Avaliação clínica

As avaliações foram realizadas após quatro, sete, 14 e 21 dias de tratamento, sendo considerado a presença ou ausência de exudato, crosta, epitelização. Sendo avaliadas clinicamente 12 feridas de cada grupo. A qualidade cicatricial foi observada aos

21 dias de tratamento sendo classificada em normotrófica ou hipertrófica, com base na textura e consistência.

Avaliação morfométrica

Todas as feridas foram avaliadas morfometricamente nos dias quatro, sete e 14, sendo os animais posicionados em decúbito ventro-dorsal e utilizando câmera digital Sony DC20® com fixação em tripé (distância 15 cm) para o registro fotográfico. A imagem obtida foi transferida para o software ImageJ®, e feita a mensuração da área da lesão em mm², permitindo assim a avaliação da contração da ferida.

Avaliação histológica

As avaliações histológicas foram realizadas em 12 feridas de cada grupo, aos quatro, sete, 14 e 21 dias. O tecido das feridas foi coletado com 1cm de margem, as amostras foram identificadas e colocadas em recipientes plásticos com formalina tamponada a 10%. Após, foram incluídas em parafina, seccionadas em 5 µm e coradas por hematoxilina-eosina (H.E.). As amostras foram avaliadas de acordo com a fase da cicatrização: inflamatória com predomínio de infiltrado inflamatório, tais como neutrófilos, macrófagos e linfócitos; proliferativa com aumento da quantidade de fibroblastos; epitelização completa e ausência de células inflamatórias e maturação (BALBINO et al., 2005). O fígado e os rins foram fixados em formol a 10% e após 24 horas resseccionadas para processamento histopatológico: desidratação com séries crescentes de álcool (70 a 100%), diafanização em xilol, impregnação e inclusão em parafina, segundo os métodos habituais (BACHA; WOOD, 1990). Em micrótomo, os fragmentos tissulares foram seccionados em espessura de 3,0 µm e subsequentemente submetidos à coloração

hematoxilina-eosina e examinados ao microscópio de luz para avaliação da integridade tecidual e o possível efeito totóxico da seiva do *C. lechleri* sobre estes órgãos.

Avaliação tensiométrica

Para essa avaliação foram utilizadas somente amostras obtidas aos 21 dias (12 feridas/grupo), colhidas com auxílio de um molde metálico em formato de ampulheta para permitir que essas apresentassem duas extremidades para fixação ao equipamento, não havendo presença de pele adjacente à região da ferida. As amostras foram acondicionadas em frascos contendo solução fisiológica 0,9%, e imediatamente encaminhadas para a análise tensiométrica, realizada através da tração axial em máquina universal de ensaio (DL 500), sendo submetida a uma carga máxima onde foi avaliado o limite máximo de resistência a tração da amostra (LM) e a deformação na carga máxima (D_{máx}) sofrida pela amostra.

Avaliação bioquímica

Nos animais tratados por 21 dias, foram coletadas amostras sanguíneas acondicionadas em tubos contendo gel separador de coágulo e sem anticoagulante. O sangue foi centrifugado a 2000'g por 10 minutos e o soro proveniente foi acondicionado em microtubos de 1mL e mantido a -80°C até o momento da análise bioquímica. Foram avaliados o metabolismo hepático e renal dos animais experimentais, através da dosagem de alanina aminotransferase, aspartato aminotransferase, fosfatase alcalina, uréia e creatinina, utilizando os kits comerciais ALT/GPT likeform[®], fosfatase alcalina likeform[®], AST/GOT likeform[®], uréia UV likeform[®] e creatinina.

Avaliação estatística

Os dados foram expressos em média e desvio padrão. Para análise das avaliações clínicas, morfométricas, histológicas, tensiométrica e bioquímicas, foram realizadas análises de variância (ANOVA), teste de Tukey e Qui-Quadrado (Statistix 9.0). Todas as conclusões foram tomadas ao nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Avaliação clínica

Na avaliação clínica se considerou a presença ou ausência de exudato, crosta, epitelização aos 4, 7, 14 e 21 dias de tratamento. Aos quatro dias não foram observadas diferenças nos parâmetros clínicos entre os grupos ($p > 0,05$). A maioria das feridas estavam em estágio inicial da cicatrização, apresentando exsudato e crostas. Da mesma forma, aos sete dias não houve diferença entre os grupos ($p > 0,05$). Aos 14 dias de tratamento, todas as feridas apresentaram crostas em diâmetros menores, sendo substituído o tecido de granulação por epitelização. O grupo III apresentou presença menor de tecidos em epitelização e remodelação (58%), em relação aos grupos I e II, que apresentaram em 100% das feridas ($p < 0,05$). O grupo I apresentou ainda maior presença de tecido de granulação, quando comparado ao controle ($p < 0,05$). Aos 21 dias de tratamento, todas as feridas encontravam-se epitelizadas com cicatrizes normotróficas, sem diferença estatística em nenhum dos parâmetros avaliados. Os dados completos referentes aos achados clínicos podem ser observados na Tabela 1.

TABELA 1 - Avaliação clínica do processo cicatricial, de feridas cutâneas abertas em ratos wistar, tratados com a aplicação tópica de *C. lecheri*, nas concentrações de 0,1 µg (Grupo I) e 1 µg (Grupo II) comparadas ao grupo controle (Grupo III) tratado com creme não iônico.

		Exsudato	Crosta	Inflamação	Granulação	Epitelização
Dia 4	Grupo I	11/12 (91%)	01/12 (09%)	01/12 (09%)	11/12 (91%)	11/12 (91%)
	Grupo II	*07/10 (70%)	03/10 (30%)	01/10 (10%)	10/10 (100%)	09/10 (90%)
	Grupo III	07/12 (58%)	00/12 (00%)	04/12 (33%)	08/12 (66%)	08/12 (66%)
Dia 7	Grupo I	00/12 (00%)	12/12 (100%)	00/12 (00%)	12/12 (100%)	12/12 (100%)
	Grupo II	00/12 (00%)	11/12 (91%)	00/12 (00%)	09/12 (75%)	11/12 (91%)
	Grupo III	01/12 (09%)	12/12 (100%)	01/12 (09%)	12/12 (100%)	12/12 (100%)
Dia 14	Grupo I	00/12 (00%)	03/11 (27%)	00/12 (00%)	12/12 (100%)	12/12 (100%)
	Grupo II	**00/11 (00%)	05/11 (45%)	01/11 (09%)	11/11 (100%)	11/11 (100%)
	Grupo III	00/12 (00%)	00/12 (00%)	00/12 (00%)	07/12 (58%)	07/12 (58%)
Dia 21	Grupo I	00/24 (00%)	00/24 (00%)	00/24 (00%)	00/24 (00%)	05/24 (20%)
	Grupo II	00/24 (00%)	00/24 (00%)	00/24 (00%)	00/24 (00%)	00/24 (00%)
	Grupo III	00/24 (00%)	00/24 (00%)	00/24 (00%)	00/24 (00%)	00/24 (00%)

Valores expressados em números absolutos e suas respectivas porcentagens ($p < 0,05$).

Grupo I < [] 0,1 µg/ml, Grupo II > [] 1 µg/ml e Grupo III (controle) tratado com creme não iônico.

* Óbito de um animal no grupo durante o procedimento anestésico

** Perda de uma amostra do grupo durante o processamento

Morfometria

Em relação a área e a contração das feridas observou-se aos quatro dias de tratamento que o grupo II apresentou maior média ($p < 0,05$) de área ($32,6 \text{ mm}^2$) em relação ao grupo I ($22,59 \text{ mm}^2$) e grupo III ($22,48 \text{ mm}^2$). Aos sete dias de tratamento o grupo II apresentou a menor média de área ($10,5 \text{ mm}^2$) em relação ao grupo I e III, com os valores de área respectivamente $12,12 \text{ mm}^2$ e $11,72 \text{ mm}^2$, porém não diferindo estatisticamente. Com 14 dias de tratamento, observou-se que o grupo II apresentou média de área de $9,98 \text{ mm}^2$, o grupo I $10,85 \text{ mm}^2$ e o grupo III apresentando diferença estatística em relação aos demais grupos ($p < 0,05$) com a área de $5,12 \text{ mm}^2$. Os resultados completos do estudo morfométrico podem ser vistos na Figura 1. Aos 21 dias de tratamento todas as feridas encontravam-se epitelizadas. A Figura 2 representa a

avaliação clínica (macroscópica) nos dias de eutanásia, representando as diferentes fases da cicatrização encontradas nesse estudo.

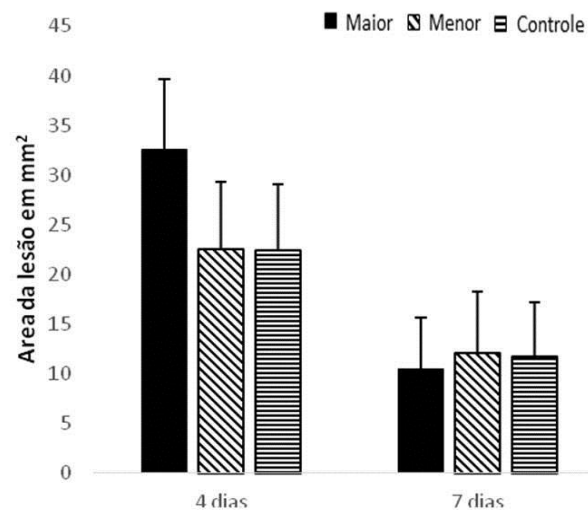


FIGURA 1- Média da área das feridas cutâneas abertas em ratos wistar tratadas com *C. lecheri*. Barras com linhas diagonais representam o grupo I ($< [] 0,1 \mu\text{g}$), barras pretas representam o grupo II ($> [] 1 \mu\text{g}$) e as linhas horizontais representam o grupo III (controle).

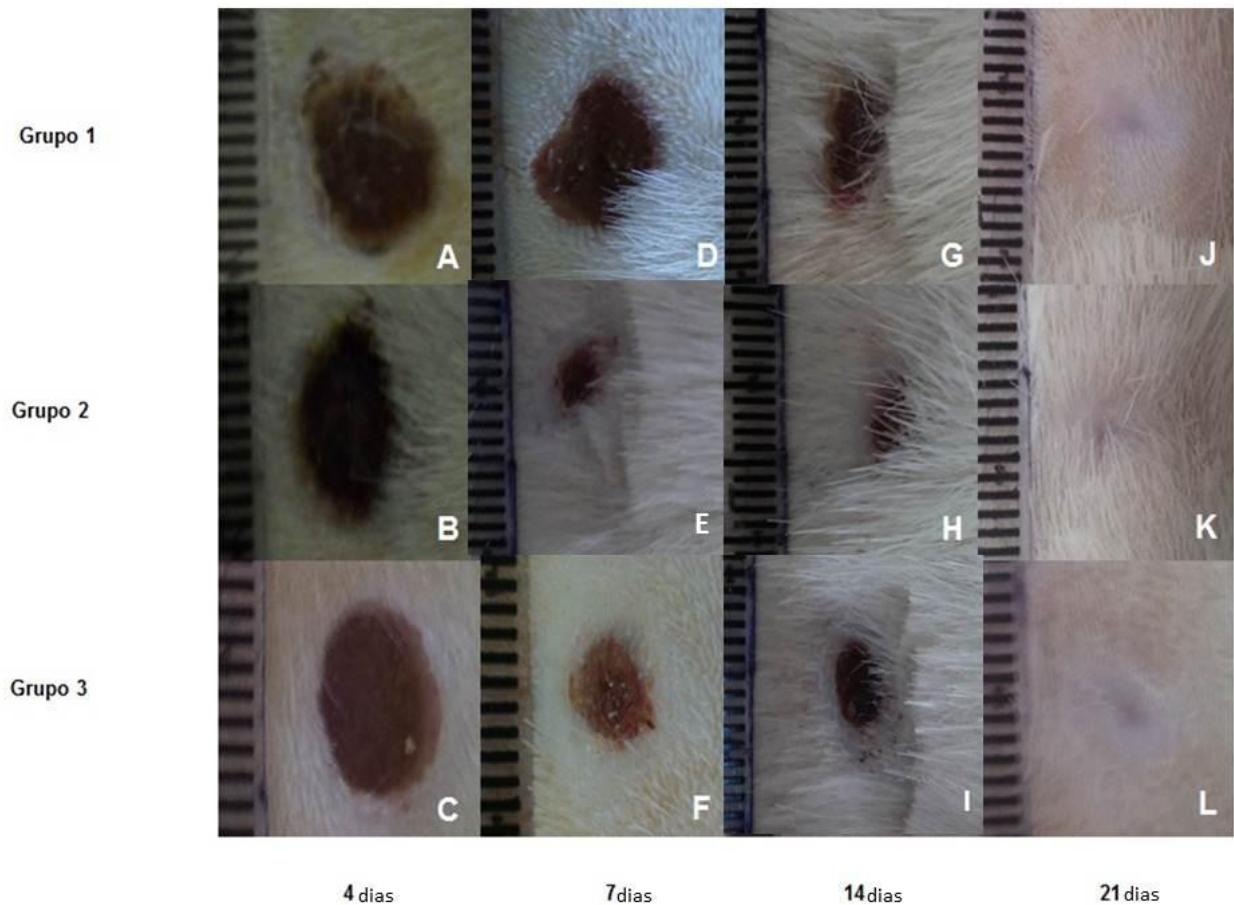


FIGURA 2 – Análise clínica das feridas abertas cutâneas de ratos wistar tratadas com *C. lecheri* nas concentrações de 0,1 µg (Grupo I), 1 µg (Grupo II) e o grupo controle com creme não iônico (Grupo III). Aos quatro (A, B, C), aos sete (D, E, F), aos 14 (G, H, I) e aos 21 de tratamento (J, K, L).

Histologia

Na coloração com hematoxilina e eosina, observou-se que aos quatro dias de tratamento, todos os grupos apresentavam-se na fase inflamatória, não sendo observada diferença entre eles. Aos sete dias o grupo I apresentou 45% das lesões na fase inflamatória e 55% na fase proliferativa. O grupo II nesse período demonstrou um maior número de amostras na fase proliferativa sendo ele de 66%, apenas 11% ainda na inflamatória e já 22% na fase de maturação. Já o grupo III apresentava 44% na fase inflamatória, 12% na proliferativa e 44% na de maturação, porém não houve entre os grupos, diferença estatística. Aos 14 dias, o grupo II se igualou ao III, sendo que ambos apresentavam 100% das lesões na fase de maturação, já o grupo I apresentou um atraso no processo, sendo que 28% das amostras ainda estavam na fase proliferativa, não havendo diferença. Aos 21 dias todos os grupos apresentavam-se na fase de maturação.

Avaliação tensiométrica

Na análise tensiométrica das lesões aos 21 dias de tratamento, o grupo III apresentou menor média (0.5463 MPa) em relação aos grupos I (1.3760 MPa) e II (4,4065 MPa). Sendo observada diferença do grupo II para os demais ($p=0,011$). Em relação à força de ruptura das feridas, o grupo III apresentou menor média de força de ruptura ($8,00 \pm 3,6$ N), comparado aos demais grupos I ($8,80 \pm 4,6$ N) e II ($11,06 \pm 2,6$ N), porém sem diferença estatística ($p=0,075$).

Perfil bioquímico

No perfil bioquímico foi observado aos quatro, sete, 14 e 21 dias de tratamento que não houveram diferenciações dentre os grupos para as enzimas avaliadas. Estando todos os parâmetros dentro dos limites fisiológicos e seus desvios padrões.

Discussão

Neste estudo demonstramos o efeito do látex de *C. lechleri*, sangue de dragão, na cicatrização de feridas em modelo murino. O uso do *C. lechleri* apresentou efeito aos 21 dias de tratamento, sobre a força tensiométrica que a cicatriz é capaz de suportar. Além disso, acelerou a presença de tecidos de epitelização e granulação aos 14 dias de tratamento. Em torno do décimo dia, o leito da ferida é preenchido por tecido de granulação (GUIDUGLI-NETO, 1987), sendo esse enriquecido com as fibras de colágeno, começando a adquirir a aparência de massa fibrótica característica da cicatriz (BALBINO et al., 2005). Com o tecido de granulação presente nos grupos I e II, já aos 14 dias, permite afirmar que o uso do sangue de dragão induz um processo cicatricial mais precoce quando comparado com o grupo controle.

No presente estudo não se observou diminuição gradativa e uniforme da área da ferida cutânea nos grupos. Porém houve diferença entre eles, ao contrario do encontrado nos estudos de Parente et al (2009) e Araujo (2010), que observaram uma diminuição uniforme em todos os grupos. O grupo II apresentou um aumento na área da lesão aos quatro dias de tratamento. Esse aumento da área das lesões, registrado logo após o traumatismo, se deve à associação da perda da tensão e edema da pele (BARBER, 1990), que pode ter ocorrido por uma maior ativação das citocinas pró-inflamatórias, causada pela ação da seiva do *Croton* (LOPES et al, 2013). Esse efeito não foi observado no grupo I, possivelmente devido a sua baixa concentração, como também não ocorreu no grupo III, pela ausência dos princípios ativos. As citocinas são um grupo de proteínas heterógenas de baixo peso molecular, extremamente potentes, que tem a sua ação

iniciada a partir da ligação a receptores específicos (SHEERAN, 1997), podendo estas sofrerem uma maior atração para o local da lesão ou uma maior ativação pelo princípio ativo da seiva do *C. lechleri* (LOPES et al., 2013). Aos sete dias de tratamento o grupo II, que havia apresentado maior área aos quatro dias, apresentava a menor média (Figura 1), possivelmente em consequência a maior reação inflamatória induzida pelo sangue de dragão, no início do processo cicatricial. Aos 14 dias de tratamento ocorreu o inverso, o grupo III apresentou uma menor área de lesão em relação ao grupo II, podendo isso ser devido a uma melhor produção e organização de colágeno pelo grupo II, o que fez com que ocorresse um atraso, porém com um melhor tecido cicatricial ao final do tratamento, podendo ser visualizado na histologia e no ensaio tensiométrico, esses resultados se equivalem ao encontrado no estudo realizado por Hatanaka e Curi (2007), ao trabalhar com ácidos graxos no tratamento de feridas cutâneas, desencadando uma exacerbada reação inicial que contribuiu para o processo cicatricial.

Neste estudo avaliamos um produto fitoterápico frequentemente utilizado na medicina popular, principalmente nos estados da região amazônica (LOPES et al., 2013). A metodologia aplicada nesse estudo é a mais recomendada para avaliar a ação pró-cicatricial de fármacos, e vem sendo amplamente aplicada para produtos etnofarmacológicos (SANTOS et al., 2004; LOPES, 2005; PARENTE et al., 2009; TILLMANN, 2011; FIKRU, 2012; FERNANDES, 2013), inclusive com as avaliações de possíveis danos hepáticos e/ou renais, decorrentes do metabolismo e excreção da seiva de *C. lechleri*.

Nesse estudo foi avaliado o potencial cicatricial da seiva do *C. Lechleri* indicado por Jones (2003) e por Lopes et al. (2013). Com a diminuição da área da lesão aos sete dias, e uma melhor tensão do tecido cicatricial pelo Grupo II, com maior concentração da seiva, podendo ser indicativo da existência do efeito acelerador da cicatrização, porém para a

indicação da seiva como parte da composição de produtos farmacológicos, existe ainda a necessidade da retomada desses estudos, utilizando doses maiores da seiva e até mesmo para uma melhor compreensão do papel desta sobre a fisiologia da cicatrização de lesões da pele.

A utilização da seiva do *C. lechleri* a 1 µg acelera o processo cicatricial, antecipando parâmetros clínicos, produzindo um tecido cicatricial com uma maior força de tensão. A formulação aqui proposta apresenta resultados satisfatórios como cicatrizante e deve ser incluída em formulações fitoterápicas, mediante maiores estudos clínicos e toxicológicos.

AGRADECIMENTOS

À CAPES e ao CNPq (305072/2012-9) pelo auxílio financeiro aos pesquisadores e fomento à pesquisa. Ao Biotério Central da UFPEL; ao Centro de Desenvolvimento e Controle de Biomateriais da Faculdade de Odontologia da UFPEL; ao Laboratório de Histopatologia da Universidade Federal de Rondônia (UNIR).

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, A. K. L. **Aspectos morfológicos do processo de cicatrização induzido por *Ouratea* sp.** Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias) – Universidade Estadual do Ceará, Faculdade de Veterinária. Fortaleza, 2010.

BACHA, W. J.; WOOD, L. M. **Color atlas of veterinary histology**. Ed: Lea & Febiger, p. 269, 1990.

BALBINO, C.A; PEREIRA, L. M.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 41, p.27-51, 2005.

BARBER, S.M. Second intention wound healing in the horse: The effect of bandages and topical corticosteroids. **Proceedings Annual Convention American Equine Practice**, v.35, p.107-116, 1990.

DI STASI, L.C.; HIRUMA-LIMA, C.A. **Plantas Medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. Revista São Paulo: UNESP, 2d. 592p., 2002.

FERNANDES, C. P. M. **Avaliação da ação cicatricial e repelente de *Carapa guianensis* e *Caesalpinia ferrea* Mart.** Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, 2013.

FERNANDEZ, P. M.; MARTINS, J. L.; NOVO, N. F.; GOMES, P. O.; GOLDENBERG, S. Estudos comparativo da resistência à tração das cicatrizes nas laparotomias longitudinais e transversais em ratos. **Acta Cirurgica Brasileira**, v.11, p.133-137, 1996.

FIKRUA, A.; MAKONNENB, E.; EGUALEC, T.; DEBELLA, A.; MEKONNENE, G. A. Evaluation of in vivo wound healing activity of methanol extract of *Achyranthes aspera* L. **Journal of Ethnopharmacology**. 143, 469–474, 2012.

GUIDUGLI-NETO, J. The effect of roentgen radiation on the capillary sprouts on superficial loops of granulation tissue I: quantitative study of the vascular volume. **Rev Odontol Unis São Paulo**. 1: 6-8, 1987.

HATANAKA, E; CURI, R. Ácidos graxos e cicatrização: uma revisão. **Rev. Bras. Farm.**, 88(2): 53-58, 2007.

JONES, K. Review of sangre de drago (*Croton lechleri*) - a South American tree sap in the treatment of diarrhea, inflammation, insect bites, viral infections and wounds: Traditional uses to clinical research. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 9, p.877-896, 2003.

KUMAR, V.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N. **Patologia – Bases patológicas das doenças**. 7ed. Rio de Janeiro: Editora Elsevier, 456p, 2005.

Lima, C. M.; Lima, A. K.; Melo, M. G. D.; Dória, G. A. A.; Leite, B. L. S.; Serafin, M. R.; Albuquerque-Júnior, R. L. C.; Araújo, A. A. S. Valores de referência hematológicos e bioquímicos de ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério da Universidade Tiradentes. **Scientia Plena** 10, 034601, 2014.

LOPES, G. C.; SANCHES, A. C. C; NAKAMURAA, C. V.; FILHO, B. P. D.; HERNANDES, L.; MELLO, J. C. P. Influence of extracts of *Stryphnodendron polyphyllum* Mart. and *Stryphnodendron obovatum* Benth. on the cicatrization of cutaneous wounds in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, 99, 265–272, 2005.

LOPES, T. V.; FÉLIX, S. R.; SCHONS, S. V.; NOBRE, M. O. Dragon's blood (*Croton lechleri* Mull., Arg.): an update on the chemical composition and medical applications of this natural plant extract. A review. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 07, n. 2, p.167-191, jul-dez, 2013.

MANDELBAUM, S. H.; DI SANTIS, E. P.; MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrização I: conceitos atuais e recursos auxiliares- Parte I. **Anais Brasileiro de Dermatologia**. Rio de Janeiro, vol 78, n 4, pp. 393-407, jul./ ago. 2003.

OLIVEIRA, F. C. S.; BARROS, R. F. M.; MOITA NETO, J. M. Plantas medicinais utilizadas em comunidades rurais de Oeiras, semiárido piauiense. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, Botucatu, v.12, n.3, p.282-301, 2010.

PARENTE, L.M.L.; SILVA, M.S.B.; BRITO, L.A.B.; LINO-JÚNIOR, R.S.; PAULA, J.R.; TREVENZOL, L.M.F.; ZATTA, D.T.; PAULO, N.M. Efeito cicatrizante e atividade antibacteriana da *Calendula officinalis* L. cultivada no Brasil. **Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu**, v.11, n.4, p.383-391, 2009.

PERCY, A.; ZEVALLOS, P.; FILHO, M. T. Espécies lenhosas do gênero *Croton* L. (Euphorbiaceae) No Estado do Acre. **Revista Brasileira de Biociências**. v. 5, supl.2, p.177-179, 2007.

ROSA, M.G.S.; PIPPI, N.L.; CASTRO, M.A.S. Transplante de pele pela técnica de semeadura em cães. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 13, pp. 203-209, 1983.

SANTOS, H. B.; MADRUGA, M.S.; BION, F. M.; ANTUNES, N. L. M.; MENDES, K.; ÁGUIDA, R. Estudos bioquímicos e hematológicos em ratos sobre biodisponibilidade de minerais numa dieta enriquecida com multimistura. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 24(4): 613-618, out.-dez. 2004.

SHEERAN P, HALL GM. Cytokines in anaesthesia. **Br J Anaesth Br J Anaesth** 78: 201-19, 1997.

TILLMANN, M. T. **Anti-sépticos e Fitoterápico na cicatrização de feridas**. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, 2011.

VALLE, J. S.; FONSECA, B. K. D.; NAKAMURA, S. S.; LINDE, G. A.; MATTANA, R. S.; MING, L. C.; COLAUTO, N. B. Diversidade genética de populações naturais de pariparoba [*Pothomorphe umbellata* (L.) Miq.] por RAPD. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.15, n.1, p.47-53, 2013.

WEISS, D. J.; WARDROP, K. J. **Schalm's Veterinary Hematology**. 6th ed. IA; Blackwell Publishing, 2010.

4 CONCLUSÃO GERAL

Avaliamos com esse trabalho a ação da seiva de *Croton lechleri* sobre parâmetros clínicos e histopatológicos, morfométricos, tensiométricos e bioquímicos associados ao processo cicatricial.

Esse estudo permitiu reunir os principais estudos realizados na última década, permitindo afirmar que existe um vazio de informações sobre o seus mecanismos de ação, sendo que nos últimos dez anos, as pesquisa com esta seiva diminuíram em quantidade e aumentaram em qualidade, comprovando a sua ação cicatricial.

A seiva da planta *C. lechleri* na concentração de 1 µg acelera o processo cicatricial das feridas nos primeiros dias após a injúria tecidual, enquanto que a concentração de 0,1 µg não apresenta resultados satisfatórios como cicatrizante; podendo ser observados pelas análises clínica, histológica, morfométrica, tensiométrica e bioquímica;

A avaliação histológica do fígado e rins, não apresentou alterações significativas, que pudesse inviabilizar o uso da seiva; apresentando ausência de efeito tóxico; como também não causou alterações significativas nos parâmetros bioquímicos. O ensaio clínico *in vivo* permitiu determinar duas dosagens seguras, sem efeito totóxico;

A utilização da seiva do *C. lechleri* nas concentrações de 1 µg em feridas cutâneas abertas apresenta ação cicatrizante, com uma maior força e tensão das cicatrizes cutâneas;

5 REFERÊNCIAS

AHMAD, R.; KHAN, A. V.; SIDDIQUI, M. F.; HASNAIN, A. U. Effects of an aqueous extract of *Croton bonplandianum* Baill in rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, v.26(3), p.336-41, 2008.

ALONSO-CASTRO, A. J.; SÁNCHEZ, E. O.; DOMÍNGUEZ, F.; TOLEDO, G. L.; CHÁVEZ, M.; TELLO, A. J. O.; CARRANCÁ, A. G.. Antitumor effect of *Croton lechleri* Mull. Arg. (Euphorbiaceae). *Journal of Ethnopharmacology*. v.140, p.438–442, 2012.

AMARAL, A. C. F.; BARNES, R. A. Alkaloids of *Croton celtidifolius*. *Planta Medica. Botanical Journal of the Linnean Society*, v.141, p.399–436, 1997.

ARAÚJO, A. K. L. **Aspectos morfológicos do processo de cicatrização induzido por *Ouratea* sp.** Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias) – Universidade Estadual do Ceará, Faculdade de Veterinária. Fortaleza, 2010.

AYALA, S.; ROJAS, J.; DÍAZ, D.; JUÁREZ, J.; DELGADO, C. Evaluación de la toxicidad vaginal de *Croton lechleri* en conejas. *Anales de la Faculade de medicina*, v.71(2), p.83-7, 2010.

AZEVEDO, K. A. A.; LIMA, Á.; LEITE, A.; MELO, T.; COSTA, J.; PEREIRA, M. A.; CAMPOS, C. A.; LIMA, A. **Guia para a extração de sangue de grado (*Croton lechleri* Müll. Arg.):** recomendações técnicas para a extração de látex de sangue de grado (sangue de dragão). Rio Branco-AC: USAID/IPAM, 28p. 2008.

BACHA, W. J.; WOOD, L. M. **Color atlas of veterinary histology**. Ed: Lea & Febiger, p. 269, 1990.

BALBINO, C.A; PEREIRA, L. M.; CURI, R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 41, p.27-51, 2005.

BARBER, S.M. Second intention wound healing in the horse: The effect of bandages and topical corticosteroids. *Proceedings Annual Convention American Equine Practice*, v.35, p.107-116, 1990.

BEZERRA, D. P.; MARINHO FILHO, J. D.; ALVES, A. P.; PESSOA, C.; MORAES, M. O.; PESSOA, O. D.; TORRES, M. C.; SILVEIRA, E. R.; VIANA, F. A.; C. Antitumor activity of the essential oil from the leaves of *Croton regelianus* and its component ascaridole. **Chemistry biodiversity**, v.6(8), p.1224-1231, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. **Programa Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos**. Brasília, v.135, 2009.

BRITO, N. D. S.; LIMA A. F.; COSTA, J. L.; TAVEIRA, U. S.; AZEVEDO K. S. Inventário e estudo da estrutura populacional de sangue de grado (*Croton lechleri* Muell. Arg.) para o manejo florestal comunitário no leste do estado do Acre, Brasil. **Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil**, Caxambu – MG, 2007.

CAI, Y.; CHEN, Z. P.; PHILLIPSON J.D. Clerodanes diterpenoids from *C. lechleri*. **Phytochemistry**, v.34(1), p.265-268, 1993b.

CAI, Y.; CHEN, Z. P.; PHILLIPSON, J.D. Diterpenes from *C.lechleri*. **Phytochemistry**, v.34 (1), p.755-760, 1993a.

CAI, Y.; EVANS, F. J.; ROBERTS, F. M.; PHILLIPSON, J. D; ZENK, H. M.GLEBAS Y. Y. Polyphenolic compounds from *C.lechleri*. **Phytochemistry**, v.30(6), p.2033-2040, 1991.

CAVALCANTE, L. C.; MOREIRA, M. C.; MOTA, O. M. L.; TURATTI, E.; VIANA, F. A. C.; PEREIRA, S. L. S. Efeito da pedra umes no processo de cicatrização tecidual. Estudo histológico em dorso de ratos. **Braz J Periodontol**. 22(1):69-73. 2012.

COSTA, R. M. A.; MENK, C. F. M. Biomonitoramento de mutagênese ambiental. **Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, p.24-26, 2000.

CRONQUIST, A. **The evolution and classification of flowering plants**. The New York Botanical Garden Press. 2ed, New York, USA. 555p., 1988.

CUNHA, M. C. Relações e dissensões entre saberes tradicionais e saber científico. **Revista da USP**, São Paulo, v.75, p.76-84, 2007.

DI STASI, L.C.; HIRUMA-LIMA, C.A. **Plantas Medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. Revista São Paulo: UNESP, 2d. 592p., 2002.

DINIZ, V. W. B.; DANTAS FILHO, H. A.; MÜLLER. R. C. S. K. G. FERNANDES. Classificação multivariada de ervas medicinais da região amazônica e suas infusões

de Acordo com sua composição mineral. **Química Nova**, v.36, n.2, p. 257-261, 2013.

ECKSTEIN, P.; TACKSON, M.; MILLMAN, N.; SOBRERO, A. Comparison of vaginal tolerance test of spermicidal preparation in rabbits and monkeys. **Journal Of The Society For Reproduction And Fertility**, v.20, p.85-93, 1996.

FÃO, F.; ZAN, R. A.; BRONDANI, F. M. M.; RAMOS, L. J.; MENEGUETTI, D. U. O. Análise do potencial mutagênico da seiva da casca de *Croton lechleri* (müll. arg), no estado de Rondônia, Amazônia Ocidental. **SaBios: Revista de Saúde e Biologia**, v.7, n.1, p. 91-98, 2012.

FAYAD, W.; FRYKNAS, M.; BRNJIC, S.; OLOFSSON, M. H.; LARSSON, R.; LINDER, S. Identification of a novel topoisomerase inhibitor effective in cells overexpressing drug efflux transporters. **PLoS One**, v.4(10), p.7238, 2009.

FERNANDES, C. P. M. **Avaliação da ação cicatricial e repelente de *Carapa guianensis* e *Caesalpinia ferrea* Mart.** Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, 2013.

FERNANDEZ, P. M.; MARTINS, J. L.; NOVO, N. F.; GOMES, P. O.; GOLDENBERG, S. Estudos comparativo da resistência à tração das cicatrizes nas laparotomias longitudinais e transversais em ratos. **Acta Cirurgica Brasileira**, v.11, p.133-137, 1996.

FIKRUA, A.; MAKONNENB, E.; EGUALEC, T.; DEBELLA, A.; MEKONNENE, G. A. Evaluation of in vivo wound healing activity of methanol extract of *Achyranthes aspera* L. **Journal of Ethnopharmacology**. 143, 469–474, 2012.

FORERO, L. E.; CHÁVEZ, J.; BERNAL, H. Agrotecnología para el cultivo de sangre grado. Fundamentos de agrotecnología del cultivo de plantas medicinales iberoamericanas. **Convênio Andrés Bello/Ciencia y Tecnología para el Desarrollo**, Bogotá. p.157-190, 2000.

FRANÇA-NETO, A.; TEIXEIRA, A. C.; MEDEIROS T. C.; FARIAS, M. D. O. S. Q.; SOUZA, A. N. C.; LAHLOU, S.; CARDOSO, J. H. L. Essential oil of *Croton argyrophyllodes*: toxicological aspects and vasorelaxant activity in rats. **Natural Product Communications**. v.7(10), p.1397-400, 2012.

FRANCO, A. P.; PERES, A. R.; SOUZA, M. F. P.; QUEIROZ, M. S.; ASSIS, J. M. F. Ação de extratos vegetais sobre o desenvolvimento de fungos simbiotes das formigas cortadeiras. **Engenharia Ambiental - Espírito Santo do Pinhal**, v.10, n.1, p.103-113, 2013.

FRANCO, A. P.; PERES, A. R.; SOUZA, M. F. P.; QUEIROZ, M. S.; ASSIS, J. M. F. Flavonoids from the Stems of *Croton caudatus* Geisel. var. *tomentosus* Hook. **Molecules**, v.15, p.1097-1102, 2010.

GOVAERTS, R.; FRODIN, D. G.; SMITH, A. R. World Checklist and bibliography of Euphorbiaceae (with Pandaceae). **The Royal Botanic Gardens, Kew**, p.1-4, 2000.

GUIDUGLI-NETO, J. The effect of roentgen radiation on the capillary sprouts on superficial loops of granulation tissue I: quantitative study of the vascular volume. **Rev Odontol Unis São Paulo**.1: 6-8, 1987.

GUIMARÃES, L. A. C.; SECCO, R. S. As espécies de *Croton* L. sect. *Cyclostigma* Griseb. e *Croton* L. sect. *Luntia* (Raf.) G. L. Webster subsect. *Matourenses* G. L. Webster (Euphorbiaceae s.s.) ocorrentes na Amazônia brasileira. **Acta Amazonica**, v.40(3), p.471 – 488, 2010.

HATANAKA, E; CURI, R. Ácidos graxos e cicatrização: uma revisão. **Rev. Bras. Farm.**, 88(2): 53-58, 2007.

ITOKAWA, H.; ICHIHARA, Y.; MOCHIZUKA, M.; ENOMORI, T.; MORITA, H.; SHIROTA, O.; INAMATSU, M.; TAKEYA, K. A cytotoxic substance from Sangre de Grado. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v.39, p.1041-1042, 1991.

JONES, K. Review of sangre de drago (*Croton lechleri*) - a South American tree sap in the treatment of diarrhea, inflammation, insect bites, viral infections and wounds: Traditional uses to clinical research. **The Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 9, p.877-896, 2003.

KING, S. R.; MEZA, E.; AYALA, F.; FORERO, L. E.; PENA, M.; ZAK, V.; BASTIEN, H. *Croton lechleri* and the sustainable harvest and management of plants in pharmaceuticals, phytomedicines and cosmetics industries. International Symposium on Herbal Medicine. **International Institute for Human Resources Development/College of Health and Human Services/ San Diego State University**, San Diego, CA. p. 305–333, 1997.

KUMAR, V.; ABBAS, A.K.; FAUSTO, N. **Patologia – Bases patológicas das doenças**. 7ed. Rio de Janeiro: Editora Elsevier, 456p, 2005.

LEAL, I. R. **Dispersão de sementes por formigas na caatinga**. Ecologia e conservação da caatinga. Recife: Editora Universitária da UFPE, p. 593–624, 2003.

Lima, C. M.; Lima, A. K.; Melo, M. G. D.; Dória, G. A. A.; Leite, B. L. S.; Serafin, M. R.; Albuquerque-Júnior, R. L. C.; Araújo, A. A. S. Valores de referência hematológicos e bioquímicos de ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério da Universidade Tiradentes. **Scientia Plena** 10, 034601, 2014.

LOPES, D.; BIZZO, H. R.; SÁ-SOBRINHO, A. F.; PEREIRA, M. V. G. Essential oil from leaves of *Croton sakaquinha* Benth. **The Journal of Essential, Oil Research**, v.15(1), p.48-49, 2003.

LOPES, G. C.; SANCHES, A. C. C.; NAKAMURAA, C. V.; FILHO, B. P. D.; HERNANDES, L.; MELLO, J. C. P. Influence of extracts of *Stryphnodendron polyphyllum* Mart. and *Stryphnodendron obovatum* Benth. on the cicatrization of cutaneous wounds in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, 99, 265–272, 2005.

LOPES, T. V.; FÉLIX, S. R.; SCHONS, S. V.; NOBRE, M. O. Dragon's blood (*Croton lechleri* Mull., Arg.): an update on the chemical composition and medical applications of this natural plant extract. A review. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 07, n. 2, p.167-191, jul-dez, 2013.

MACIEL, M. A. M. et al. Plantas medicinais: a necessidade de estudos multidisciplinares. **Química Nova**, v.25, p.429-438, 2002.

MAIA, J. M. A.; CZECHKO, N. G.; RIBAS FILHO, J. M.; DIETZ, U. A.; DUCK, D.; RIBAS, C. A. P. M.; SANTOS, E. A.; BAPTISTELLA, E.; WALLBACH, T. Z.; VALE, J. R.; YAGUSHITA, N. Estudo da cicatrização de suturas na bexiga urinária de ratos com e sem a utilização de extrato bruto de *Jatropha gossypifolia* L. intraperitoneal. **Acta Cirúrgica Brasileira** – v.21 (Suplemento 2), 2006.

MANDELBAUM, S. H.; DI SANTIS, E. P.; MANDELBAUM, M. H. S. Cicatrização I: conceitos atuais e recursos auxiliares- Parte I. **Anais Brasileiro de Dermatologia**. Rio de Janeiro, vol 78, n 4, pp. 393-407, jul./ ago. 2003.

MARINO, S.; GALA, F.; ZOLLO, F.; VITALINI, S.; FICO, G.; VISIOLI, F.; IORIZZI, M. Identification of Minor Secondary Metabolites from the Latex of *Croton lechleri* (Muell-Arg) and Evaluation of Their Antioxidant Activity. **Molecules**, 13, p. 1219-1229, 2008.

MEDEIROS, C. A.; DANTAS FILHO, A. M.; ROCHA, K. F. B.; AZEVEDO, I. M.; MACEDO, F. Y. B. Ação do fator de crescimento de fibroblasto básico na cicatrização da aponeurose abdominal de ratos. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.18; n.1, p.5-9, 2005.

MENDONÇA R. J.; COUTINHO-NETTO J. Aspectos celulares da cicatrização. **An Bras Dermatol.** 84(3):257-262. 2009.

MILANOWSKI, D. J.; WINTER, R. E. K.; ELVIN-LEWIS, M. P. F.; LEWIS, W. H. Geographic distribution of three alkaloid chemotypes of *Croton lechleri*. **The Journal of Natural Products**, v.65, p.814-819, 2002.

MILLER, M. J .S .; MacNaughton, WK; ZHANG, XJ; THOMPSON, JH; Charbonnet, RM; Bobrowski, P .; LAO, J .; TRENTACOSTI, AM;SANDOVAL, M. Tratamento de úlceras gástricas e diarreia com o remédio à base de plantas da Amazônia sangue de grado. **American Journal of Physiology.** Gastrointestinais e hepáticas Fisiologia, v.279, p.192-200, 2000.

MONTOPOLI, M.; BERTIN, R.; CHEN, Z.; BOLCATO, J.; CAPARROTTA, L.; FROLDI, G. *Croton lechleri* sap and isolated alkaloid taspine exhibit inhibition against human melanoma SK23 and colon cancer HT29 cell lines. **Journal of Ethnopharmacology**, v.144, p.747–753, 2012.

MURILLO, R. M.; JAKUPOVIC, J.; RIVERA, J.; CASTRO, V. H. Diterpenes and other constituents from *Croton draco* (Euphorbiaceae). **Revista de Biologia Tropical.** 49(1): p. 259-264, 2001.

NEIVA, T. J. C.; MORAES, A. C. R.; BUCHELE, C.; PIZZOLATTI, M. G.; D'AMICO, E. A.; FRIES, D. M. ROCHA, T. R. F. Antiplatelet activity of *Croton celditifolius*. **Revista Brasileira de Ciências Farmacológica**, v.44, n.1, p.133-141, 2008.

NOGUEIRA, R. M. B., KITAMURA E. A.; AGUIAR O. M. Estudo clínico da reparação tecidual de feridas cutâneas de cães tratados com papaína e collagenase. **Nos Clín.** 8(43):25-28, 2005.

OLIVEIRA, A. C.; CARDOSO, J. H. L.; SANTOS, C. F.; MORAIS, S. M.; SOUZA, A. N. C. Antinociceptive effects of the essential oil of *Croton zehntneri* im mice. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 34, p.1471-1474, 2001.

OLIVEIRA, F. C. S.; BARROS, R. F. M.; MOITA NETO, J. M. Plantas medicinais utilizadas em comunidades rurais de Oeiras, semiárido piauiense. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**s, Botucatu, v.12, n.3, p.282-301, 2010.

PAGANELA, J. C.; RIBAS, L. M.; SANTOS, C.A.; FEIJÓ, L. S.; NOGUEIRA, C. E. W.; FERNANDES, C. G. Abordagem clínica de feridas cutâneas em equinos. **RPCV** 104 (569-572) 13-18, 2009.

PALAZZINO, G.; FEDERICI, E.; RASOANAIVO, P.; GALEFFI, C.; MONACHE, F. D. 3,4 - seco diterpenes of *Croton geayi*. **Gazzeta Chimica Italiana**, v.127, p.311-314, 1997.

PANOBIANCO, M. S.; SAMPAIO, B. A. L.; CAETANO, E. A.; INOCENTI, A. GOZZO T.O. Comparação da cicatrização pós-mastectomia entre mulheres portadoras e não-portadoras de diabetes mellitus. **Rev. Rene**. 11:15-22. 2012.

PARENTE, L.M.L.; SILVA, M.S.B.; BRITO, L.A.B.; LINO-JÚNIOR, R.S.; PAULA, J.R.; TREVENZOL, L.M.F.; ZATTA, D.T.; PAULO, N.M. Efeito cicatrizante e atividade antibacteriana da *Calendula officinalis* L. cultivada no Brasil. **Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu**, v.11, n.4, p.383-391, 2009.

PERCY, A.; ZEVALLOS, P.; FILHO, M. T. Espécies lenhosas do gênero *Croton* L. (Euphorbiaceae) No Estado do Acre. **Revista Brasileira de Biociências**. v. 5, supl.2, p.177-179, 2007.

PIETERS, L. Isolation of dihydrobenzofuran lignan from South American dragon's blood (*Croton* sp) as an inhibitor of cell proliferation. *Journal Natural Products*. v.56, n.6, p.889-906, 1993.

BOBROWSKI, R. M. P.; LAO, J.; TRENTACOSTI, A. M.; SANDOVAL, M. Treatment of gastric ulcers and diarrhoea with the Amazonian herbal medicine sangue de grado. **American Journal of Physiology. Gastrointestinal and Liver Physiology**, v.279, p.192-200, 2000.

REIS, P. S.; ESTEVAM, I. H. S.; SANTOS, W. P. C.; KORN, M. G. A.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; ARAÚJO, R. G. O.; PIMENTEL, M. F.; FERREIRA, S. L. C. Mineral composition of *Lippia alba* (Mill.) N.E. Brown leaves. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, v.21, n.10, p.1905-1909, 2010.

ROLLINGER, J. M.; SCHUSTER, D.; BAIER, E.; ELLMERER, E. P.; LANGER, T.; STUPPNER, H. Taspine: bioactivity-guided isolation and molecular ligand-target insight of a potent acetyl-cholinesterase inhibitor from *Magnolia x soulangiana*. *Journal of Natural Products*, v.69, p.1341-1346, 2006.

ROSA, M.G.S.; PIPPI, N.L.; CASTRO, M.A.S. Transplante de pele pela técnica de semeadura em cães. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 13, pp. 203-209, 1983.

ROSSI, D.; BRUNI, R.; BIANCHI, N.; CHIARABELLI, C.; GAMBARI, R.; MEDICI, A.; LISTA, A.; PAGANETTO, G. Evaluation of the mutagenic, antimutagenic and antiproliferative potential of *Croton lechleri* Muell. Arg. latex. **Phytomedicine**, v.10, p.139-144, 2003.

ROSSI, D.; GUERRINI, A.; MAIETTI, S.; BRUNI, R.; PAGANETTO, G.; POLI, F.; SCALVENZI, L.; RADICE, M.; SARO, K.; SACCHETTI, G. Chemical fingerprinting and bioactivity of Amazonian Ecuador *Croton lechleri* Müll. Arg. (Euphorbiaceae) stem bark essential oil: A new functional food ingredient? **Food Chemistry**, v.126, P. 837–848, 2011.

ROSSI, D.; GUERRINI, A.; PAGANETTO, G.; BERNACCHIA, G.; CONFORTI, F.; STATTI, G.; MAIETTI, S.; POPPI, I.; TACCHINI, M.; SACCHETTI, G. *Croton lechleri* Mull. Arg. Euphorbiaceae) stem bark essential oil as possible mutagen-protective food ingredient against heterocyclic amines from cooked food. **Food Chemistry**, v.139, p.439-447, 2013.

SALATINO, A.; FARIA SALATINO, M. L.; NEGRI, G. Traditional uses, chemistry and pharmacology of *Croton* species (Euphorbiaceae). **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v.18(1), p.11-33, 2007.

SANDOVAL, M.; AYALA, S.; ORÉ, R.; LOLI, A.; HUAMÁN, O.; VALDIVIESO, R.; BÉJAR, E. Capacidad antioxidante de la sangre de grado (*Croton palanostigma*) sobre la mucosa gástrica, en animales de experimentación. **Anales de la Facultad de Medicina**, v.67(3), p.199-205, 2006.

SANTOS, H. B.; MADRUGA, M.S.; BION, F. M.; ANTUNES, N. L. M.; MENDES, K.; ÀGUIDA, R. Estudos bioquímicos e hematológicos em ratos sobre biodisponibilidade de minerais numa dieta enriquecida com multimistura. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 24(4): 613-618, out.-dez. 2004.

SANVODAL, M.; AYALA, S.; ORÉ, R.; LOLI, R.; HUAMÁN, O. Estimulación de la actividad péptica del jugo gástrico, inducida por látex de *Croton palanostigma* (sangre de grado). **Anales de la Facultad de Medicina**, v.69(3), p.164-167, 2008.

SARANY, M. M. **Avaliação do efeito cicatrizante do extrato de repolho (Brassica oleracea var. capitata) em ratos wistar**. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Estrutural) – Universidade Federal de Viçosa, 59f, Viçosa. 2007.

SECCO, R. S. A new species de *Croton* sect. *Geiseleria* (Euphorbiaceae) from Eastern Amazonian, Brazil. *Revista Brasileira de Botânica*, v.32(2), p.249-252, 2009.

SECCO, R. S.; BERRY, P. E.; ROSA, N. A. *Croton diasii* and *Croton trombetensis* two new Euphorbiaceae from Amazonian, Brazil. **Novon**, v.11(1), p.119-123, 2001.

SHEERAN P, HALL GM. Cytokines in anaesthesia. **Br J Anaesth** 78: 201-19, 1997.

SILVA, L. K.; FILHO, C. V. Plantas do gênero *Bauhinia*: Composição Química e potencial farmacológico. **Química Nova**, v.25(3), p.449-454, 2002.

SILVA, R. M.; OLIVEIRA, F. A.; CUNHA, K. M.; MAIA, J. L.; MACIEL, M. A.; PINTO, A. C. Cardiovascular effects of trans-dehydrocrotonin, a diterpene from *Croton cajucara* in rats. **Vascular Pharmacology**, v.43(1), p.11-18, 2005.

SMITH, B.A. A new species of *Croton* (*Euphorbiaceae*) from Ecuador. department of environmental studies, Emory University, 400 downman drive, Atlanta Georgia. Novon. **A Journal For Botanical Nomenclature From The Missouri Botanical Garden**, v.16, n.1, p.273-274, 2006.

TILLMANN, M. T. **Anti-sépticos e Fitoterápico na cicatrização de feridas**. Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Veterinária da Universidade Federal de Pelotas, 2011.

UBILLAS, R.; JOLAD, S. D.; BRUENING, R. C.; KERNAN, M. R.; KING, S. R. ; KING SESIN, D. F.; BARRETT, M.; STODDART, C. A.; FLASTER, T.; KUO, J.; AYALS, F.; MEZA, E.; CASTANEL, M.; MCMEEKIN, D.; ROZHON, E.; TEMPESTA, M. S.; BARNARD, D.; HUFFMAN, J.; SMEE, D.; SIDWELL, R.; SOIKE, K.; BRAZIER, A.; SAFRIN, S.; ORLANDO, R.; KENNY, P. T. M.; BEROVA, N.; NAKANISHI, K. SP-303, An antiviral oligomeric proanthocyanidin from the latex of *Croton lechleri* (Sangre de Drago). **Phytomedicine**, v.1, p.77-106, 1994.

VALLE, J. S.; FONSECA, B. K. D.; NAKAMURA, S. S.; LINDE, G. A.; MATTANA, R. S.; MING, L. C.; COLAUTO, N. B. Diversidade genética de populações naturais de pariparoba [*Pothomorphe umbellata* (L.) Miq.] por RAPD. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.15, n.1, p.47-53, 2013.

VIEIRA, A. et al. Efeito genotóxico da infusão de capítulos florais de camomila. **Revista Trópica. Ciências Agrárias e Biológicas**, v.3, n.1, 2009.

WEBSTER, G.L. A provisional synopsis of the section of the genus *Croton* (*Euphorbiaceae*). **Annals of Missouri Botanical Garden**, v.81(1), p.3-32 , 1993.

WEISS, D. J.;WARDROP, K. J. **Schalm's Veterinary Hematology**. 6th ed. IA; Blackwell Publishing, 2010.

ZEVALLOS-POLLITO, P. A. Z.; TOMAZELLO, M. F. Espécies lenhosas do gênero *Croton* L. (*Euphorbiaceae*) no Estado do Acre. **Revista Brasileira de Biociências**, v.5(2), p.177-179, 2007.

ZHANG, Y.; HE, L.; ZHOU, Y. Taspine isolated from Radix et Rhizoma Leonticis inhibits growth of human umbilical vein endothelial cell (HUVEC) by inducing its apoptosis. **Phytomedicine**, v.15, p.112-119, 2008.